



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**İKİLİ İLAÇ İÇEREN NANOYAPILI LİPİD
TAŞIYICILARIN BİYOUYUMLULUĞUNUN
İNCELENMESİ VE MELANOMA TEDAVİSİ İÇİN JEL
FORMÜLASYONUNUN HAZIRLANMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Hande BALYAPAN

Biyokimya Anabilim Dalı

İzmir
2022

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**İKİLİ İLAÇ İÇEREN NANOYAPILI LİPİD
TAŞIYICILARIN BİYOUYUMLULUĞUNUN
İNCELENMESİ VE MELANOMA TEDAVİSİ İÇİN JEL
FORMÜLASYONUNUN HAZIRLANMASI**

Hande BALYAPAN

Danışman: Prof. Dr. Şenay HAMARAT ŞANLIER

Biyokimya Anabilim Dalı
Biyokimya Yüksek Lisans Programı

İzmir 2022

Hande BALYAPAN tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan“İKİLİ İLAÇ İÇEREN NANOYAPILI LİPİD TAŞIYICILARIN BİYOUYUMLULUĞUNUN İNCELENMESİ VE MELANOMA TEDAVİSİ İÇİN JEL FORMÜLASYONUNUN HAZIRLANMASI” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

Jüri Başkanı : Prof. Dr.Şenay ŞANLIER

Raportör Üye : Prof. Dr. Erol AKYILMAZ

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Habibe YILMAZ

İmza

.....

.....

.....



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “İkili İlaç İçeren Nanoyapılı Lipid Taşıyıcıların Biyouyumluluğunun İncelenmesi Ve Melanoma Tedavisi İçin Jel Formülasyonunun Hazırlanması” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

22/07/2022

Hande BALYAPAN



ÖZET**İKİLİ İLAÇ İÇEREN NANOYAPILI LİPİD TAŞIYICILARIN
BİYOUYUMLULUĞUNUN İNCELENMESİ VE MELANOMA
TEDAVİSİ İÇİN JEL FORMÜLASYONUNUN HAZIRLANMASI**

BALYAPAN, Hande

Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şenay HAMARAT ŞANLIER

Nisan 2022, 76 sayfa

Melanoma cilde rengini veren melanosit hücrelerinde başlayan ve bu hücrelerin kontrolsüz çoğalması sonucunda oluşan bir cilt kanseri türüdür. Cilt kanserlerinin çok azı melanomadır ancak öldürücülüğü en yüksek olan çeşitidir. Tez kapsamında melanoma tedavisinde hedef bölgeye doğrudan uygulanabilen bir yöntem olan transdermal uygulamalar tercih edilmiştir ve amaç doğrultusunda ikili kullanımda etkinliği arttığı bilinen Doksorubisin ve Trabektedin ilaçları seçilmiştir. Nanoyapılı lipid taşıyıcılar (NLC) kullanılarak ilaçların cilt katmanlarına kolay taşınımı ve Karbopol 940 jel kullanılarak da cilde yapışarak uzun süreli tedaviye olanak sağlaması hedeflenmiştir. İkili ilaç içeren melanomaya hedefli NLC'nin yüklü olduğu karbopol 940 jel sentezlenmiştir. Hazırlanan jel formülasyonuna yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucunda pH'nın 6,01, viskozite değerinin 13639 cp, hidrodinamik boyut 149,60 nm, PDI değeri 0,474 ve zeta potansiyel -34,52 mV olarak bulunmuştur. Bu değerler topikal uygulamalar için cilt ile uyumlu ve jelin cilt katmanlarından geçişi kolaylaştıracak değerlerdir. Protein bağlama ve hemoliz çalışmaları sonucunda biyouyumlu olduğuna karar verilen jelin, in vitro ilaç salımı sonucunda uzun süreli ve kontrollü salım gerçekleştirdiği sonucuna varılmıştır. Hazırlanan jelin stabilitesini 5°C'de 6 ay koruduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Melanoma, Doksorubisin, Trabektedin, Nanoyapılı lipid taşıyıcılar, karbopol 940 jel, transdermal uygulama



ABSTRACT**INVESTIGATION OF THE BIOCOMPATIBILITY OF
NANOSTRUCTURED LIPID CARRIERS CONTAINING DUAL DRUGS
AND PREPARATION OF A GEL FORMULATION FOR THE TREATMENT
OF MELANOMA**

BALYAPAN, Hande

MSc in Biochemistry.

Supervisor: Prof. Dr. Senay HAMARAT SANLIER

April 2022, 76 pages

Melanoma is a type of skin cancer that starts in the melanocyte cells that give the skin its color and occurs as a result of the uncontrolled proliferation of these cells. Very few skin cancers are melanoma, but it is the most lethal type. In the scope of the thesis, transdermal applications, which are a method that can be applied directly to the target area, were preferred in the treatment of melanoma, and Doxorubicin and Trabectin drugs which are known to increase in efficiency in dual use, were selected for the purpose. It is aimed to easily transport the drugs to the skin layers by using nanostructured lipid carriers (NLC) and to allow long-term treatment by adhering to the skin by using Carbopol 940 gel. Carbopol 940 gel loaded with melanoma - targeted NLC containing dual drugs was synthesized. As a result of the characterization studies performed on the prepared gel formulation, the pH was found to be 6.01, the viscosity value was 13639 cp, the hydrodynamic dimension was 149.60 nm, the PDI value was 0.474 and the zeta potential was -34.52 mV. These values are compatible with the skin for topical applications and will facilitate the passage of the gel through the skin layers. It was concluded that the gel, which was determined to be biocompatible as a result of protein binding and hemolysis studies, performed long-term and controlled release as a result of in vitro drug release. It was determined that the prepared gel maintained its stability at 5°C for 6 months.

Keywords: Melanoma, Doxorubicin, Trabectedin, Nanostructured lipid carriers, carbopol 940 gel, transdermal application

ÖNSÖZ

Melanoma öldürücülüğü çok yüksek olan agresif bir tümördür. Mevcut yöntemlerle günümüze kadar etkili bir tedavi geliştirilememiştir. Hedefe yönelik tedavi olmaması ile hastaların yaşam kalitesi ve yaşam süreleri günden günden düşmektedir. Tez kapsamında melanoma hücrelerini hedefleyen ve böylece varolan yan etkileri en aza indiren tedavi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda hastalıklı bölgeye direkt uygulanan ve uygulama kolaylığı sunan transdermal tedaviler tercih edilmiştir. İlaç taşıyıcı sistem olan nanoyapılı lipid taşıyıcılar (NLC) tercih edilmiş ve ikili kullanımda daha etkili sonuç alındığı bilinen doksorubisin ve trabektedin antikanser ilaçları seçilmiştir. NLC ile birlikte kullanıldığında cilt bariyerlerinden daha kolay geçebilen karbopol 940 jeller ile formülasyon geliştirilmiş ve çok çeşitli karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tez sürecim boyunca melanoma, NLC, Doksorubisin, Trabektedin ve transdermal uygulamalarla ilgili birçok bilgi edindim. NLC ve jel sentezi üzerine çok sayıda deneyimim oldu. Elde edilen sonuçların literatürle karşılaştırılıp yorumlanmasını tecrübe ettim.

Melanoma başta olmak üzere kanser, tedavisi zor ama imkansız olmayan bir hastalıktır. Tez kapsamında geliştirilen formülasyonla, bu hastalıkla mücadele eden insanlara umut olmayı diliyorum. Bilim hayal kurmakla başlayan ve gerçeğe giden yolları aydınlatan bir ışıktır. Bu ışık yolunda ilerleyerek bilime ve insanlığa faydalı olmayı dilerim.

Bu çalışma 219S788 numaralı, “Melanoma Tedavisinde İkili İlaç İçeren Hedefli Nanopartikül Sisteminin Topikal Kemoterapiye Yönelik Etkinliğinin Araştırılması” adlı proje olarak Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir.

İZMİR

22/07/2022

Hande BALYAPAN



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
TABLO DİZİNİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (DEVAM)	xxii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ.....	2
2.1.Kanser	2
2.2.Cilt Kanseri.....	3
2.3.Melanoma.....	4
2.3.1.Melanoma Çeşitleri	7
2.3.2.Melanoma Tanısı.....	14
2.3.3. Melanoma Tedavisi.....	15
2.4.Antikanser İlaçlar	17
2.4.1.Doksorubisin	17
2.4.2.Trabektedin	19
2.5.Nanotaşıyıcı sistemler	21
2.5.1.Lipozomlar	22
2.5.2.Katı Lipid Nanopartiküller.....	23
2.5.3.Nanoyapılı Lipid Taşıyıcılar	24
2.6.Transdermal İlaç Uygulamaları.....	27
2.6.1.Jel Formülasyonu	27
2.7.Biyoyumluluk.....	29
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	30
3.1.Materyal	30
3.2.Metot	30
3.2.1.Boş Karbopol 940 Jel Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	30
3.2.2.DTP-NLC yüklü Karbopol 940 Jelin Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	31

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>sayfa</u>
3.2.3.In Vitro İlaç Salımı.....	33
3.2.4.Biyouyumluluk Çalışmaları	33
3.2.5.Stabilite Çalışmaları.....	35
4.SONUÇLAR VE TARTIŞMA	36
4.1.Boş Karbopol 940 Jelin Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	36
4.2.DTP-NLC yüklü Karbopol 940 Jelin Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	38
4.3.In Vitro İlaç Salımı.....	42
4.3.1.DTP-NLC jele ait ilaç salımı.....	42
4.4.Biyouyumluluk Çalışmaları	45
4.4.1.Protein Bağlama	45
4.4.2.Hemoliz Testi	46
4.5.Stabilite Çalışmaları.....	47
5.SONUÇLAR	61
6.ÖNERİLER.....	63
KAYNAKLAR DİZİNİ	64
TEŞEKKÜR.....	77
ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ	78



ŞEKİLLER DİZİNİ

sayfa

Şekil 2.1. Bazal Hücreli Karsinom(Craythorne and Al-Niami, 2017).....	3
Şekil 2.2. Skuamöz Hücreli Karsinom (Craythorne and Al-Niami, 2017).....	4
Şekil 2.3. Melanoma görüntüsü (Davies, 2021)	5
Şekil 2.4. Melanin pigmentinin görüntüsü (Kawakami and Fisher, 2017).....	5
Şekil 2.5. Melanoma hücrelerinin büyüme evresi (Miller and Mihm, 2006)	6
Şekil 2.6. Melanoma evreleri (Naves et al., 2017)	7
Şekil 2.7. Yüzeyel Yayılan Melanoma'ya ait mikroskop görüntüsü (Elder et al., 2020)	7
Şekil 2.8. Lentigo Melanoma'ya ait mikroskop görüntüsü	8
Şekil 2.9. Desmoplastik melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)....	9
Şekil 2.10. Spitz melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)	9
Şekil 2.11. Akral melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020).....	10
Şekil 2.12. Mukozal melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)	10
Şekil 2.13. Konjenital Nevüslerde Ortaya Çıkan Melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020).....	11
Şekil 2.14. Blue Nevüzlerde Ortaya Çıkan Melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020).....	12
Şekil 2.15. Uveal Melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020).....	13
Şekil 2.16. Nodüler Melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)	14
Şekil 2.17. Doksorubisin yapısı (ACD/Labs Software 6.0 programı ile çizilmiştir). 17	
Şekil 2.18. Trabektedin yapısı (ACD/Labs Software 6.0 programı ile çizilmiştir). ..	20
Şekil 2.19. Nanotaşıyıcı çeşitleri ve görselleri(Ding and Li, 2017)	22
Şekil 2.20. Lipozom (Sercombe et al., 2015)	23
Şekil 2.21. SLN şematik gösterimi (Bay et al., 2019)	24
Şekil 2.22. SLN ve NLC yapısal olarak karşılaştırılması	25
Şekil 2.23. A) Tip I NLC, B) Tip II NLC, C) Tip III NLC'lere ait yapısal şekilleri(Subramaniam, Siddik, and Nagoor, 2020).....	26
Şekil 2.24. NLC moleküllerinin cilt tabakasından geçisi(Sharma et al., 2017).....	28

ŞEKİLLER DİZİNİ (DEVAM)

Şekil 2.25. Karbopol jelin şematik gösterimi a)seyrelik yapı b)sıkı paketlenmiş yapı(Shafiei et al., 2018)	29
Şekil 2.26. Karbopol 940 jelin yapısal gösterimi(Xu et al., 2020)	29
Şekil 3.1. Boş karbopol 940 Jelin hazırlandıktan sonraki görüntüsü.....	311
Şekil 3.2. 1) DTP-NLC'nin sonik prob ile dipserse edilirken görüntüsü, 2) Karbopol 940 eklendikten sonra gece boyu karışmasına ait görüntü, 3) TEA ekledikten sonra mekanik karıştırıcı karıştırılması, 4) DTP-NLC jelin görüntüsü	322
Şekil 3.3. Protein bağlama deney düzeneği	34
Şekil 4.1. Karbopol 940 jele ait DSC eğrisi.....	377
Şekil 4.2. DTP-NLC yüklü jelin düşük büyütmedeki SEM görüntüsü.....	411
Şekil 4.3. DTP-NLC yüklü jelin yüksek büyütmedeki SEM görüntüsü.....	411
Şekil 4.4. DTP-NLC jele ait DSC eğrisi	411
Şekil 4.5. Doksorubisinin DTP-NLC jel formülasyonundan pH 7,4 ve pH 5 tamponlarındaki zamana bağlı salımı.....	433
Şekil 4.6. Trabektedinin DTP-NLC jel formülasyonundan pH 7,4 ve pH 5 tamponlarındaki zamana bağlı salımı.....	433
Şekil 4.7. Hemoliz deneyi sonu tüplerdeki görüntü. Soldan sağa sırasıyla negatif kontrol (PBS), pozitif kontrol (Triton X-100), 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 mg/mL DTP-NLC tüpleri.	46
Şekil 4.8. 1.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki stabilite örnekleri.....	48
Şekil 4.9. 2.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki stabilite örnekleri.	48
Şekil 4.10. 3.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki stabilite örnekleri.	48
Şekil 4.11. 6.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki stabilite örnekleri.	49
Şekil 4.12. 12.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki stabilite örnekleri.	49



TABLO DİZİNİ

Tablo 4.1. Boş karbopol 940 jele ait pH, Viskozite, Hidrodinamik boyut, PDI ve Zeta potansiyel sonuçları.....	366
Tablo 4.2. DTP-NLC jele ait pH, Viskozite, Hidrodinamik boyut, PDI ve Zeta potansiyel sonuçları.....	388
Tablo 4.3. Farklı serum:nanotaşıyıcı oranlarında (v:v) protein bağlanma yüzdeleri (%).....	45
Tablo 4.4. Jelin stabilitesine ait pH değerleri	500
Tablo 4.5. Jelin stabilitesine ait viskozite sonuçları	522
Tablo 4.6. Jelin stabilitesine ait hidrodinamik boyut ve PDI değerleri	544
Tablo 4.7. Jelin stabilitesine ait zeta potansiyel değerleri	57
Tablo 4.8. Jelin stabilitesine ait etken madde miktarı	59



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Nm
g
Miligram
 μ g
mL
 μ L
rpm
 $^{\circ}$ C
%
mV
mM
v
dk
cp
Gy

Açıklama

Nanometre
Gram
Miligram
Mikrogram
Mili litre
Mikro litre
Dakikadaki devir sayısı
Santigrat
Yüzde
Milivolt
Milimolar
Hacim
Dakika
Puaz
Gray

Kısaltmalar

SC Tabakası
DNA
RNA
MC1R
PTCH1
 α -MSH
UV
PET
MRI

Açıklama

Stratum Corneum Tabakası
Deoksiribo nükleik asit
Ribonükleik asit
Melanokortin reseptörü-1
Protein yamalı homolog
 α -melanosit uyarıcı xxiormone
Ultraviyole
Pozitron emisyon tomografisi
Manyetik rezonans görüntüleme

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

LDH	Laktat Dehidrogenaz
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi
Dox	Doksorubisin
Trb	Trabektedin
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
TC-NER	Transkripsiyon-Birleştirilmiş Nükleotid Eksizyon Onarımı
ATP	Adenozin trifosfat
SLN	Katı Lipid Nanopartiküller
NLC	Nanotaşıyıcı Lipid Taşıyıcılar
d-su	distile su
TEA	Trietanolamin
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
DSPE-PEG	1,2 -distearoil -sn-glisero- 3 – fosfoetanolamin-N-[karboksi (polietilen glikol) – 2000]
PDI	Polidispersite İndeksi
DTP-NLC	Doksorubisin ve Trabektedin yüklü, DSPE-PEG-Tirozin konjugatı ile hedeflendirilmiş nanoyapılı lipid taşıyıcılar
P-NLC	DSPE-PEG-Tirozin konjugatı ile melanoma hedeflendirilmiş nanoyapılı lipid taşıyıcılar
LAT-1	L-Aminoasit Transporter 1



1.GİRİŞ

Kanser Dünya’da ölüme sebep olan hastalıkların ikinci sırasında gelmektedir (Cao et al., 2021). Melanoma bir cilt kanseri türüdür ve cilt kanserleri arasında öldürücülüğü en yüksek olanıdır (Domingues et al., 2018). Transdermal uygulamalar hedef bölgeye doğrudan uygulanan, kolay ve süreklilik sağlanabilen tedavi yöntemidir (Cullen et al., 2020). İlaç taşıyıcı sistemler, düşük doz ilaç kullanımıyla kanserli dokulara etkinin artmasını sağlarken sağlıklı hücrelere etkisi azalır ve böylece yan etki oluşumu minimum düzeye iner (Chamundeeswari et al., 2019). NLC ilaçların taşınımını kolaylaştıran biyoyouumlu nanopartiküllerdir. NLC’lerin yapısındaki lipid partiküllerinin küçük boyutu, SC tabakası ile yakın temas sağlayarak cilt penetrasyonunu artırır. Cilt ile yakın teması mukozaya veya cilde nüfuz eden ilaç miktarını artırır. NLC jel, cilt üzerinde tek katmanlı bir lipid filmi oluşturur. Bu film trans-epidermal su kaybını önler. Böylece ciltte tıkaçıcı etkiye neden olur. Cildin nem içeriğini artırır, cilt uzun süre nemli kaldığı için lipid filmin cilt üzerinde kalma süresi de artar ve bunun sonucunda uzun süreli ilaç salınımı gerçekleşir. Ayrıca NLC’nin bileşimlerindeki yüzey aktif maddelerin varlığı nano yapıların termodinamik stabilitesini artırılır. Sürfaktanların varlığı cildin geçirgenliği üzerinde de rol oynar çünkü bunlar cildin yapısında bozulmaya neden olabilir. Bu mekanizmanın fiziksel bir UV blokajına izin verdiği bilinmekte bu yönden bakıldığında cildin güneşten korunmasına da imkan vermektedir(Beloqui et al., 2016; Imran et al., 2020).

Tez kapsamında doksorubisin ve trabektedin ikili ilaçları yüklenen melanomaya hedefli nanoyapılı lipid taşıyıcılar karbopol 940 ile birleştirilerek jel formülasyonu geliştirilmiştir. Literatürde, trabektedinin nanotaşıyıcı sistemlerde kullanımı oldukça kısıtlı olmakla birlikte doksorubisin ile kombine halde kullanımı mevcut değildir. Bunun yanısıra trabektedin ve doksorubisinin kombine halde melanoma tedavisinde ve topikal formülasyon da kullanılması da literatüre yenilik getirmektedir.

2. GENEL BİLGİ

2.1.Kanser

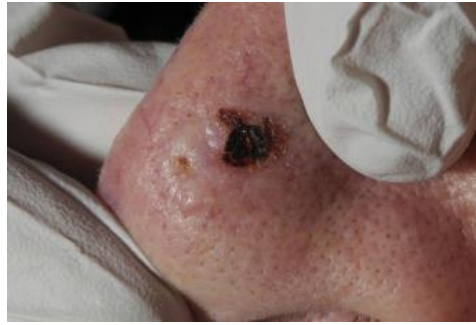
Kanser, dünyada ölüme neden olan hastalıkların ikinci sırasında yer almaktadır. Kanser, çevresel faktörlerden ve genlerden kaynaklanan karmaşık bir hastalıktır. Kısaca, hücrelerin farklılaşması ve farklılaşan hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması olarak tanımlanmaktadır. Tümör hücreleri, besin açısından fakir bir ortamda, gerekli besinleri toplayarak hem canlılığını sürdürür hem de yeni hücreler oluşturmaya başlar(Pavlova and Thompson, 2016; Ravasco, 2019). Kanserın başlıca nedenleri arasında genetik ve epigenetik faktörler yer almaktadır. Belirli bir genin ekspresyonu sırasında tümör baskılayıcılarının ya da onkogenlerin mutasyona uğraması sonucunda fonksiyon kaybı ve anormal gen oluşumu gerçekleşir. Bu durum kanserin genetik yolunu açıklamaktadır. Kanserın epigenetik yolu ise, DNA metilasyonu, histon varyantları ve modifikasyonları, nükleozomun yeniden şekillenmesi ve ayrıca kodlama yapamayan küçük düzenleyici RNA'ların bulunduğu kromatin yapısında gerçekleşen değişiklikler şeklinde açıklanmaktadır (You and Jones, 2012). Genetik ve epigenetik yolların yanısıra çevresel faktörlerde kanser oluşumu üzerinde oldukça etkilidir. Hava kirliliği, beslenme düzensizliği, tütün ve alkol kullanımı, gıda katkı maddeleri, üreme ve cinsel faktörler, endüstriyel ürünler, ilaçlar ve enfeksiyon gibi dış etkenler de kanser sebepleri arasında yer almaktadır (Clapp et al., 2006).

Globocan 2020 yılı verilerine göre Dünya’da toplam 19 292 789 kanser vakasının 2 261 419’u meme kanserine aittir ve meme kanseri en yaygın kanser türüdür. Toplam ölüm sayısı ise 9 953 133 iken bunların 1 796 144’ü akciğer kanserinden kaynaklanmıştır ve akciğer kanseri en çok ölüme sebep olan kanser türüdür. Türkiye’de ise hem vaka sayıları hem de ölüm oranları sıralamasının başında akciğer kanseri gelmektedir.

2.2. Cilt Kanserleri

Cilt kanserleri dünyada yaygın görülen kanser türlerindendir ve yayılma hızı gün geçtikçe artarak devam etmektedir. Genellikle melanosit ve epidermal olarak türetilen hücrelerin farklılaşması ve kontrolsüz çoğalmaları sonucunda oluşur. Kızıl saçlı ve çilli bireyler, MC1R geninin R allel varyantının iki kopyasını taşır ve genetik olarak cilt kanseri geliştirme riski yüksektir. Nadir görülen otozomal resesif durum kseroderma pigmentosa, UV ışığının neden olduğu hasarı onarma yeteneğinin kusurlu olduğu bir DNA onarım bozukluğudur ve bu bozukluğa sahip bireylerde cilt kanserine rastanma ihtimali yüksektir. Cilt kanserleri olduğu hücreye göre farklı şekilde isimlendirilmektedir. Melanoma dışı cilt kanseri ve melanoma olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Melanoma olmayan cilt kanserleri daha yaygındır ancak daha yüksek hayatta kalım profili çizmektedir.

Bazal hücreli karsinom Şekil 2.1’de görüldüğü gibi, tümör baskılayıcı PTCH1 genindeki bir mutasyonun neden olduğu ve bu hücrelerin kontrolsüz çoğalmaları sonucunda oluşan otozomal dominant bir durumdur. Genellikle 40 yaşın üzerindeki hastalarda görülür ve yavaş büyüyen ayrıca nadiren metastaz yapan tümörlerdir. İyileşmeyen bir kabuk, hafif yuvarlak kenarlı bir yara ve ciltte kalınlaşmış beyaz bir alan ile kendini belli eden bazal hücreli karsinom uzun süreli güneş maruziyeti sonucunda oluşum göstermektedir.



Şekil 2.1. Bazal Hücreli Karsinom(Craythorne and Al-Niami, 2017)

Skuamöz hücreli karsinom, Şekil 2.2’de görüldüğü gibi, deri veya mukoza zarlarının epidermisindeki skuamöz keratinositlerden kaynaklanan malign bir tümördür. Sıklıkla fotohasarlı ciltte ve uygun Fitzpatrick cilt tipinde görülür. Tümör çapının 2 cm’in ve derinliğin 4 mm’in üzerinde olması kötü prognostik faktör ile ilişkilidir. Dudakta, kulakta ve UV korumalı bölgelerde meydana gelir.

İmmünoşupresyon, lupus eritematozus, bacak ülserleri, yanıklar gibi kronik skarlı durumlar, sigara kullanımı, arsenik ve insan papilloma virüsü enfeksiyonu skuamöz hücreli karsinomun oluşum sebepleri arasındadır.



Şekil 2.2. Skuamöz Hücreli Karsinom (Craythorne and Al-Niami, 2017)

Kaposi sarkomu, insan herpes virüsü 8 ile ilişkili olan düşük dereceli bir neoplazmdır. Lezyonlar genellikle mukokutanöz bölgelerde bulunur. Mor renkli küçük bir deri değişimiyle başlar, plak şeklinde büyümeye devam eder ve daha sonra ülserli bir nodül olarak gelişerek hastalık sistemik hale gelir.

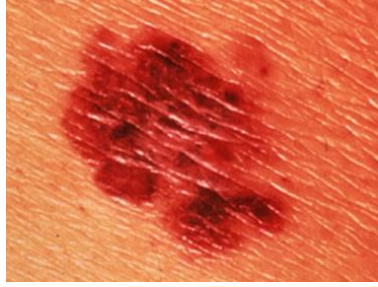
Merkel hücreli karsinom yaşı hastalarda daha sık görülen ve genellikle baş ve boyunda oluşan nadir bir cilt kanseri türüdür. Etiyolojisi, UV'ye kronik maruziyet ve immünoşupresyon ile ilişkilidir. Tümör genellikle soliter, hızla büyüyen düzensiz kırmızı bir nodül olarak ortaya çıkar. Lenfatik sistem yoluyla metastaz yapar.

Kutanöz T hücreli lenfoma, nadir görülen hastalık grubudur. Deride T hücre lenfositlerinin klonal birikimi ile karakterize edilir. Hastalık, uzun yıllar boyunca stabil kalabilen veya plaklara ve tümörlere dönüşebilen cilt değişiklikleri ile kendini gösterir. Küçük yaraların evresini sedef hastalığı veya egzamadan ayırt etmek genellikle zor olabilir, bu nedenle uzun yıllar fark edilemeyebilir (Craythorne and Al-Niami, 2017; Griffin et al, 2016).

2.3. Melanoma

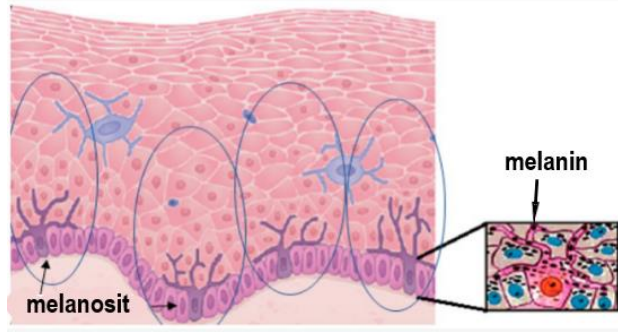
Melanoma deride, gözde, iç kulakta ve leptomeninkslerde bulunan ve cilde rengini veren melanosit hücrelerinin mutasyona uğraması sonucunda meydana gelmektedir. Şekil 2.3'te çıplak göz ile görüntüsü verilen melanoma, cilt kanserlerinin en agresif ve en ölümcül olan türüdür (Domingues, Lopes, Soares, and Populo, 2018). 2020 yılı globacon verilerine göre, tüm cilt kanserlerinin %21'i

melanomaya ait iken cilt kanserlerinden hayatını kaybedenlerinin %50'si melanomadan kaynaklanmaktadır



Şekil 2.3. Melanoma görüntüsü (Davies, 2021)

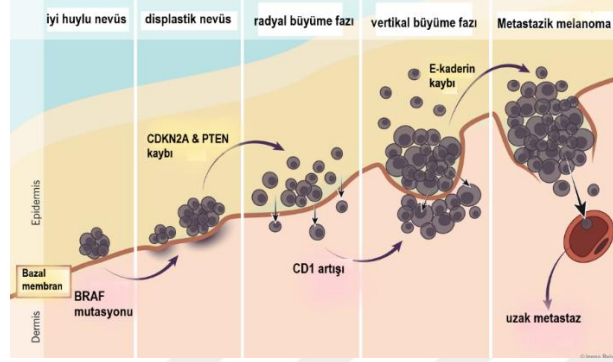
Epiderminin bazal seviyesinde, Şekil 2.4'te verilen, UV emici pigment olan melanin üretimini gerçekleştiren melanosit hücreleri bulunur. İki tür melanin pigmenti vardır. Bunlar, siyah/kahverengi rengini veren eumelanin ve kırmızı/sarı rengi veren feomelanindir. Bu iki pigmentin birbirine oranı cilt rengini belirler. Koyu renkli eumelanin daha iyi bir UV kalkanıdır, feomelanin ise hem UV radyasyonuna karşı daha az koruma sağlar hem de üretimi kansorejen etki gösterir. Bu sebeple melanoma görülme sıklığı beyaz ırkta çok daha yüksektir (Davis et al, 2019).



Şekil 2.4. Melanin pigmentinin görüntüsü (Kawakami and Fisher, 2017)

Ailede melanoma öyküsü ve çevresel faktörler etkili olsa bile melanomanın temel sebebi UV maruziyetidir. UV ışığa maruz kalma, α -MSH kendi reseptörü olan MC1R üzerindeki etkisiyle cilt pigmentasyonunu arttırır. Hormonun reseptöre bağlanması, melanositlerde hücre içi sinyalleşmeyi uyarır ve bu sinyal, melanin üretiminde yer alan enzimlerin ekspresyonunu arttırır. Hücrelerin kontrolsüz çoğalması da melanoma ile sonuçlanmaktadır (Miller and Mihm, 2006).

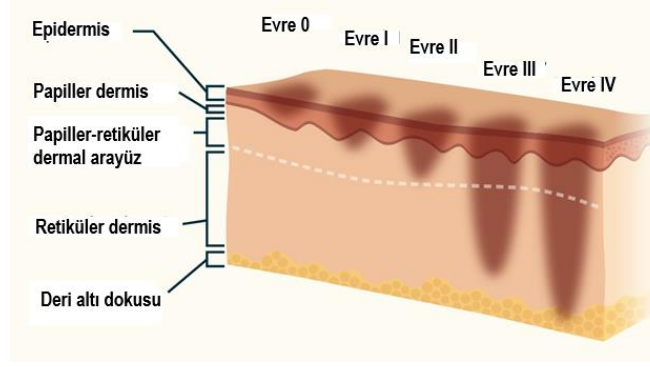
Kanserleşen melanoma hücreleri, Şekil 2.5'te verildiği gibi, önce radyal (yatay) zaman içinde de vertikal (dikey) yayılma özelliği gösterirler. Dikey yayılmaya geçtiği dönem metastaz, yani lenf bezlerine ve diğer organlara yayılma süreci olarak kabul edilir (Betti et al., 2016)



Şekil 2.5. Melanoma hücrelerinin büyüme evresi (Miller and Mihm, 2006)

Melanoma oluşum ve yayılım sürelerine göre evrelere ayrılmıştır ve Şekil 2.6'da şematik olarak verilmiştir;

- Evre 0: Kanser hücreleri epidermis ile sınırlıdır ve yayılmamıştır. Bu aşamada kanser genellikle tek başına ameliyatla tedavi edilir. Melanoma in situ olarak da bilinir.
- Evre I (oldukça erken evre): Kanser hücreleri cildin derinliklerine doğru büyümüş, ancak lenf düğümlerine veya vücudun diğer organlara yayılmamıştır.
- Evre II (erken evre): Kanser hücreleri cildin derinliklerine doğru büyümüştür veya daha yüksek riskli özelliklere sahiptir, ancak lenf düğümlerine veya ötesine yayılmamıştır.
- Evre III (bölgesel ileri evre): Kanser hücreleri bölgesel olarak adlandırılan yakındaki lenf düğümlerine yayılmıştır, ancak uzak organlara henüz yayılım yapmamıştır.
- Evre IV (ileri evre, metastaz evresi): Kanser hücrelerinin deri ve bölgesel lenf düğümlerinin ötesine, karaciğer, akciğerler veya beyin gibi uzak organlara veya uzaktaki lenf düğümlerine ve bölgelerine yayıldığı anlamına gelir (Cacicedo et al., 2018; Naves et al., 2017).

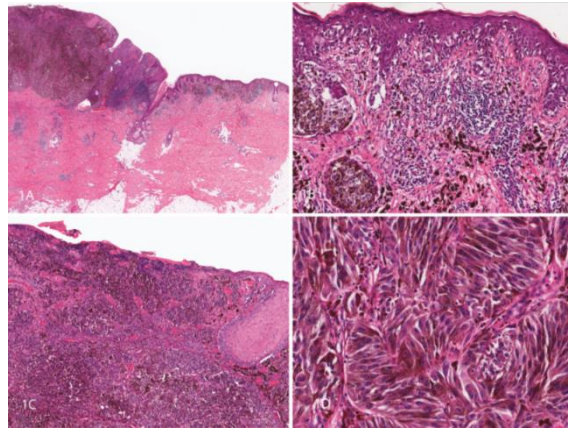


Şekil 2.6. Melanoma evreleri (Naves et al., 2017)

2.3.1. Melanoma Çeşitleri

2.3.1.1. Yüzeyel Yayılan Melanoma

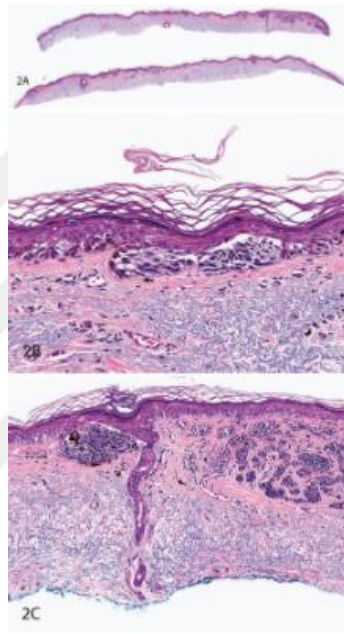
Melanomanın en yaygın görülen türü, Şekil 2.7’de mikroskop görüntüsü verilen Yüzeyel Yayılan Melanoma’dır. Yoğun veya belirli aralıklarla güneşe maruz kalınması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Sıklıkla kahverengi, siyah ve pembe olarak gözlemlenirken nadiren de olsa mavi ve beyaz renkli olarak gözlemlenmiştir. Radyal büyüme fazında dermal-epidermal bağlantı boyunca düzenlenmiş ve yuva oluşturma eğilimi yüksek olan büyük epiteloid melanositlerin ağırlıklı olarak intraepidermal çoğalması vardır. Lezyonlar genellikle ağır pigmentlidir, sınırlandırılmış bir şekilde bulunur, stabildir ve yayılım göstermez. (Dessinioti et al., 2018; Elder et al., 2020; Susok and Gambichler, 2022).



Şekil 2.7. Yüzeyel Yayılan Melanoma’ya ait mikroskop görüntüsü (Elder et al., 2020)

2.3.1.2. Lentigo Melanoma

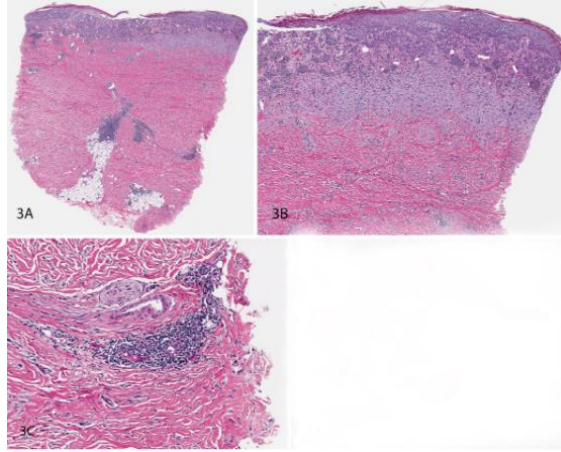
Yoğun UV ışınları maruziyeti sonucunda ortaya çıkmaktadır. Yüzeysel yayılan melanoma ile karşılaştırıldığında daha sınırlı bir alana yayılır ve ilerleme hızı daha yavaştır. Teşhis edilebilmeleri için 6 mm'den büyük boyutta olmaları gereklidir. Düzensiz şekillere ve pigmentasyonlara sahiptir, pürüzsüz yüzeyleri ayırt edici özelliklerindendir. Bazı vakalarda ülserli kanayan yüzey, kaşıntı, renk değişimi gözlenebilir. Şekil 2.8'de mikroskop görüntüsü verilmiştir (DeWane et al., 2019; Elder et al., 2020).



Şekil 2.8. Lentigo Melanoma'ya ait mikroskop görüntüsü (Elder et al., 2020)

2.3.1.3. Desmoplastik Melanoma

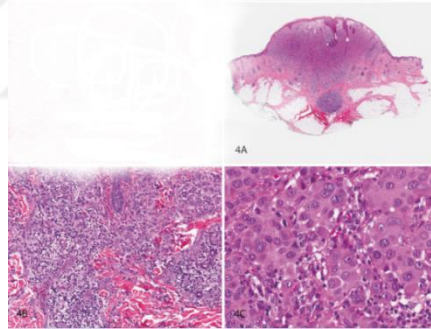
Desmoplastik melanoma, Şekil 2.9'da mikroskop görüntüsü verilmiştir, en az 60 olmak üzere daha ileri yaşlarda görülmeye başlayan melanoma türüdür. Dikey eksenine doğru bir büyüme gösterir ve dermise sızarak nodül oluşturur ve daha sonra tümöre dönüşür. Bu tümörlerin desmoplastik bileşeni, şekil 'de görüldüğü gibi, kollajen lifleri ile ayrılmış tek tek hücrelerin bulunduğu iğsi yapılardır ve birbirine bitişik halde bulunur. Genellikle solgun ve renksiz olarak ortaya çıkar bu yüzden de hasta tarafından farkedilmesi oldukça zordur. (Elder et al., 2020; Nicolson and Han, 2019).



Şekil 2.9. Desmoplastik melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)

2.3.1.4. Spitz Melanoma

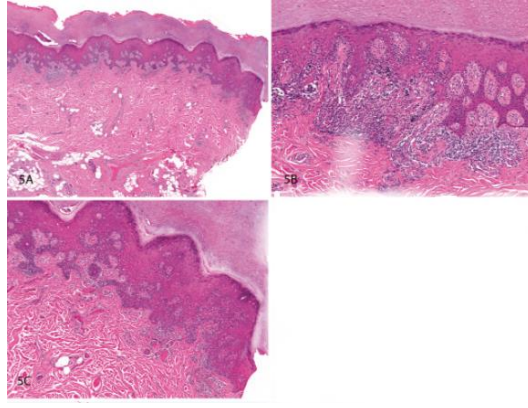
Spitz melanomanın karakteristik özelliği büyüme ve gelişme potansiyeli yüksek olan büyük lezyonlardır. Lezyonel hücreler şekil 2.10'da görüldüğü gibi büyük çekirdekli ve bol sitoplazmalıdır. Mitotik aktivitesi oldukça yüksektir böylece hızlı bir şekilde yayılım gösterirler (Elder et al., 2020).



Şekil 2.10. Spitz melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)

2.3.1.5. Akral Melanoma

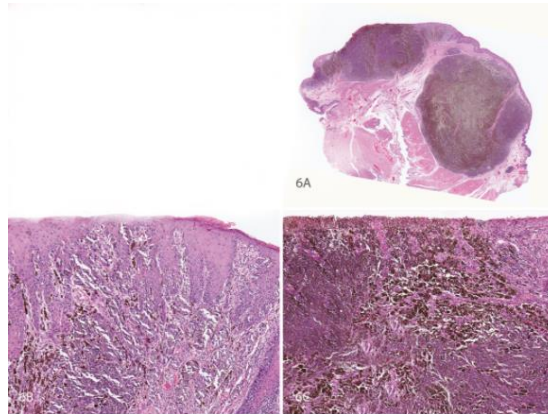
Hispanik ve Afrikan kökenli siyahı ırkta yaygın görülen melanoma türüdür. El ve ayak parmakları, avuç içleri, ayak tabanları ve tırnaklar gibi vücudun tüy olmayan bölgelerinde oluşmaktadır. Akral Melanoma türü cildin üst yüzeyinde oluşur, alt tabakalarda mitotik aktivitesi düşüktür. Şekil 2.11'de mikroskop görüntüsü verilmiştir (Elder et al., 2020).



Şekil 2.11. Akral melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)

2.3.1.6. Mukozal Melanoma

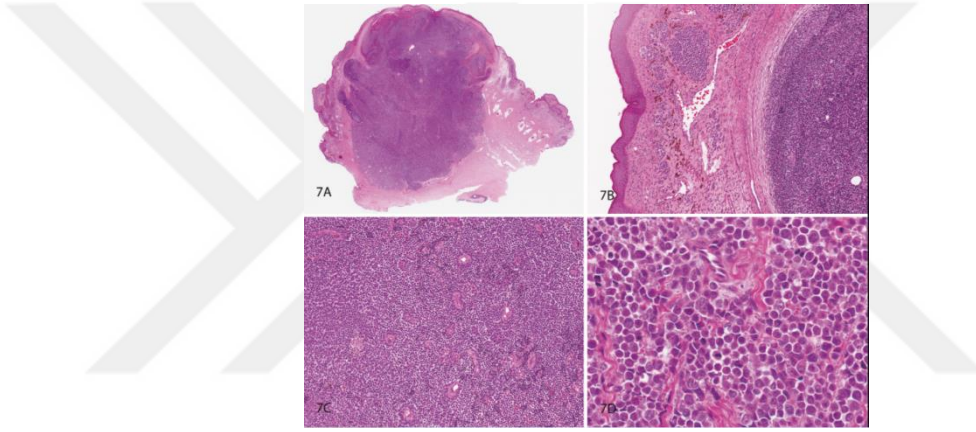
Mukoza zarında meydana gelen Mukozal Melanoma lezyonları en çok genital bölgelerde, ağız ve burun boşluklarında ve konjunktivada ortaya çıkar. Bu melanoma türü tüm ırklarda yaklaşık olarak eşit sıklıkta meydana gelir bu yüzden de beyaz ırk dışında görülen melanomaların önemli bir kısmını oluşturur. Güneşe maruziyet ile bilinen bir ilişkisi olmamakla birlikte neyin sebep olduğu tam olarak bilinmemektedir. Bu lezyonların görselleştirilmesindeki zorluklar nedeniyle kanama ve ağrı ile kendini belli eder. Çevredeki dokuları işgal eden ve yok eden hacimli bir tümör olarak ortaya çıkar. Şekil 2.12'de mikroskop görüntüsü verilen Mukozal Melanoma, yakın çevrelerde yoğun bir şekilde çoğalmaya devam eder ve sıklıkla farklılaşma gösterir.(Elder et al., 2020; Nenclares et al., 2020; Yde et al., 2018).



Şekil 2.12. Mukozal melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)

2.3.1.7. Konjenital Nevüslerde Ortaya Çıkan Melanoma

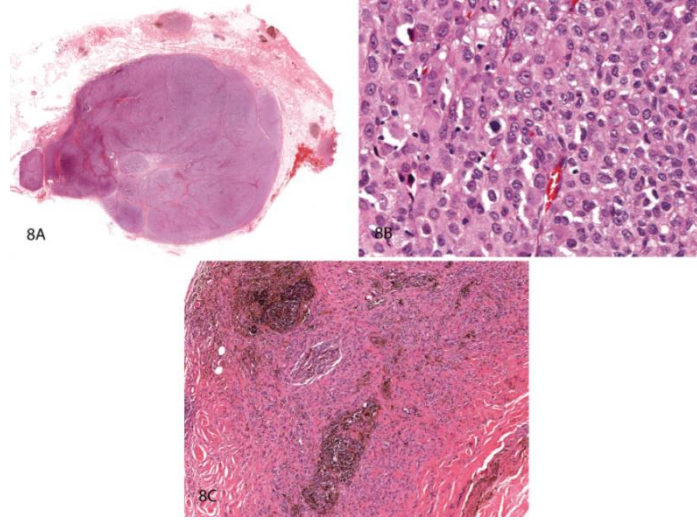
Doğumda oluşan melanositik nevus olarak da tanımlanan konjenital nevuslar, yenidoğanlarda nadiren görülen melanoma türüdür ve Şekil 2.13’de mikroskop görüntüsü verilmiştir. Bu melanomaya ait lezyonlar, daha sonraki yaşamda gelişen edinsel nevuslardan klinik olarak ayırt edilemeyen küçük lezyonlardır. Gelişmekte olan melanoma, klinik olarak arka plandaki pigmentli ve genellikle tüylü nevüs tarafından maskelenebilir. Bunların, genellikle küçük yaşlarda ortaya çıkan, ancak her zaman biyopsi gerektirmeyen iyi huylu lezyonlar olan konjenital nevüslerden ve proliferatif nodüllerden ayırt edilmesi gerekir. Tümörün büyüklüğüne ve mitoz içeriğine göre öldürücülüğü artmaktadır. (Elder et al., 2020; Merkel et al., 2019).



Şekil 2.13. Konjenital Nevüslerde Ortaya Çıkan Melanomaya ait mikroskop görüntüsü (Elder et al., 2020)

2.3.1.8. Blue Nevüslerde Ortaya Çıkan Melanoma

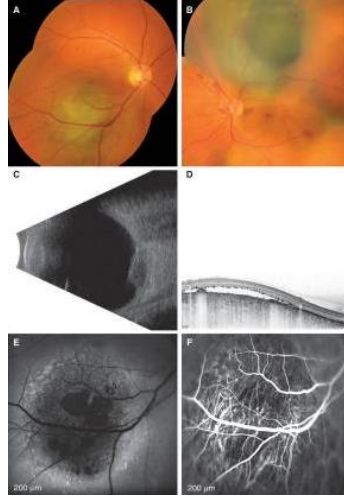
Blue nevüsler diğer türlere göre görülme sıklığı çok düşüktür ve bu sebeple oluşma riski çok fazla bilinmemektedir. Tipik olarak bazen kalınlaşmış retiküler dermis kollajen lif demetleri arasında yer alan ince dendritik sitoplazmik süreçlere sahiptir. Bazen de seyrek olarak dağılmış iğsi ve renkli hücre popülasyonundan oluşur. Lezyonlar temelde subkutise uzanan şişkin bir genişlemeye sahiptir. Çoğunluk ayak tabanında ve avuç içlerinde lokalize olurlar. Genellikle öncü lezyonların varlığından dolayı teşhisi gecikmektedir ve bu sebeple lezyonun boyutunda artış meydana gelmektedir. Şekil 2.14’te mikroskop görüntüsü verilmiştir (Elder et al., 2020; Licata et al., 2021).



Şekil 2.14. Blue Nevüzlerde Ortaya Çıkan Melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)

2.3.1.9. Uveal Melanoma

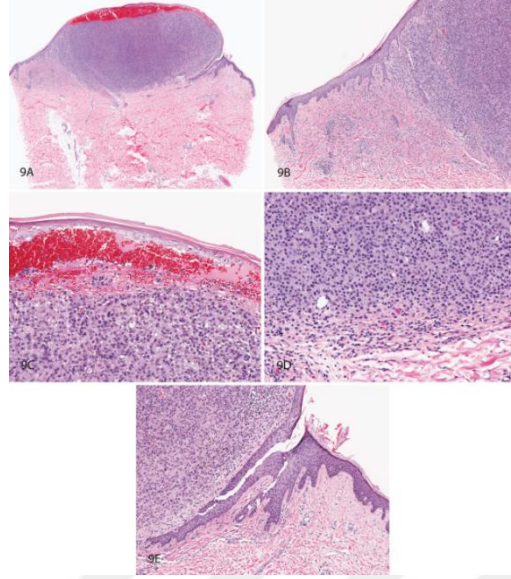
Uveal melanoma türü çok nadir görülen kanser çeşiti olmakla birlikte erişkinlerde en sık görülen deri dışı melanoma vakasıdır, Şekil 2.15'te mikroskop görüntüsü verilmiştir. Gözün primer malignitesidir. Uvea melanoma, farklı anatomik lokasyonlara göç eden ve yerleşen pluripotent nöral krest hücrelerinden kaynaklanır. Bulunduğu bölge, rengi, şekli ve boyutu ile karakterize edilmektedir. Vakaların çoğunda tümör koroide tutulur. Tümörler çoğunlukla renkli yapıdadır. Bruch zarını kırıp subretinal boşluğa doğru büyümeye devam ettiğinde mantar benzeri bir görünüm kazanır. Ortalama bazal boyut 11,1 mm ve ortalama kalınlık 5,5 mm'dir. Bazı durumlarda, tümör bölgesinde kanamalar gelişebilir ve nadiren retina aşındığında vitröz boşluğunu da tutabilir. Uveal melanoma vakalarının çoğunda karaciğere metastaz gerçekleştiği görülmektedir (Elder et al., 2020; Jager et al., 2020).



Şekil 2.15. Uveal Melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)

2.3.1.10. Nodüler Melanoma

Bu melanoma türü ülserlidir ve aralıklı güneş maruziyetinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Radyal büyüme fazı göstermeseler de metastas durumunda vertikal büyümeleri oldukça yüksektir ve mitotik aktivitesi yüksek olduğu için hızlı yayılım gösterirler. Klinikte nodüler melanomalar genellikle amelanotiktir ve pembe papülonodüler bir lezyon olarak oluşum göstermektedir. Çapları küçük olmasına rağmen oldukça derin olarak konumlanırlar. Karakteristik olarak epidermisin üzerinde yükselirler ve yukarı yönde birikimli büyümeyi gösterirler. Nodüler melanoma vakaları diğer melanoma türleri ile kıyaslandığında ortalama olarak daha kötü prognoza sahiptir. Şekil 2.16'da mikroskop görüntüsü verilmiştir (Elder et al., 2020; Green et al., 2018).



Şekil 2.16. Nodüler Melanomaya ait mikroskop görüntüsü(Elder et al., 2020)

2.3.2. Melanoma Tanısı

Melanomanın benlerden ayırt edilmesi çok zordur, bu yüzden de çoğu zaman teşhis konulmasında güçlük yaşanır veya geç kalınır. Melanomayı benden ayıran bazı özellikler vardır. Melanoma bene göre daha asimetrik, düzensiz ve bulanık yapıda oluşum gösterir. Daha koyu renkte ve daha büyük boyutta olan melanoma farklı boyutlarda ve farklı şekillerde olmasıyla klasik ben ayırt edilebilmektedir (Davis et al., 2019).

2.3.2.1.Dermoskopik yaklaşım

Dermoskopi, pigmentli ve çıplak gözle görülemeyen lezyonların ayrımsal teşhisini belirlemede kullanılmaktadır. Yöntemin ilk adımında, melanomik lezyonların ayırt edici yapıları ve değişen yoğunluklarına dayalı olarak dermoskopik görüntülerden farklı tipte renk ve doku özellikleri çıkarılmaktadır. Dijital dermoskopi ve tüm vücudun fotoğraflanması ile yeni oluşan lezyonların belirlenmesine olanak sağlanır. Ayrımsal teşhisler diğer pigmentli melanositik lezyonları, melanositik olmayan pigmentli lezyonları ve diğer pigmentli tümörleri belirlemeyi kapsamaktadır (Davis et al., 2019; Waheed, 2017).

2.3.2.2.Histopatolojik yaklaşım

Histopatolojik yaklaşımda klinikpatolojik tipi, malignitenin bulunduğu bölge, tümör kalınlığı, ülserin gözlenip gözlenmediği, invazyon düzeyi, varsa mikrosatelitler, lateral veya derineksizyon ayrımlarının tespiti gerçekleştirilir. Ayrıca histopatolojik yaklaşımda her mm²'de ki mitozların sayısı, mitotik aktivitesi ve nüksetme bilgilerine de ulaşılmaktadır. Horizontal ve vertikal eksenlerdeki gelişme evresi veya gerileme olup olmadığı, vasküler ve perinöronal bulaşma gibi bilgilere de bu yöntemle ulaşılmaktadır (Davis et al., 2019).

2.3.2.3.İleri evre gözlemleri

Yüksek ve düşük riskli olmak üzere hastalar çeşitlilik göstermektedir. Bölgesel lenf nodülleri ve yumuşak doku için ultrason, akciğer filmi ve abdominal sonografi pelvis ve retroperiton için kullanılır. Yüksek risk spektrumundaki hastalarda yayılma gösteren bir melanoma varsa bunun organlardaki görüntüsünü belirlemek için bilgisayarlı tomografi, PET; tümör boyutunu belirlemek için de MRI gözlemleri istenir. Ek olarak LDH ve serum protein S-100 yayılma belirtici olarak kullanılan parametrelerdir (Davis et al., 2019).

2.3.3. Melanoma Tedavisi

Melanomanın genel tedavi protokülünde cerrahi müdahaleler, radyoterapi ve kısmen de kemoterapi vardır.

2.3.3.1.Cerrahi uygulamalar

Melanoma tedavisinde en çok tercih edilen yöntem olan cerrahi müdahaleler için tümör lokalize olmalıdır. Metastaza uğramış tümörlerde operasyon uygulanması mümkün değildir. Yine cerrahi müdahaleler için tümör boyutunun 0,8 mm'den daha büyük olması gerekmektedir (Davis et al., 2019).

2.3.3.2.Radyoterapi

Melanoma hücreleri, verimli enzimatik sistem, yüksek çoğalma kapasitesi, zayıf hücre farklılaşması ve radyo- dirençli kanser kök hücreleri dahil hipoksik hücre havuzları nedeniyle yüksek onarım kapasitesine sahiptir. Bu yüzden melanoma radyodirençli kanser türü olarak kabul edilmektedir. Geleneksel olarak melanoma tedavisinde 1.8-3 Gy fraksiyonuna dayalı radyoterapi uygulanmakta ve sonuç alınamamaktadır. Etkisinin görülebilmesi için 4,8 Gy gibi daha yüksek dozlarda radyoterapi uygulanması gerekmektedir. Ancak bu da cilt irritasyonu, enfeksiyonu ve yorgunluk gibi olası yan etkileri daha fazla arttırmaktadır(Espenel et al., 2017).

2.3.3.3.Kemoterapi

Kemoterapi; kanser hücrelerini öldürmek ve yok etmek için kullanılan sitotoksik ilaçlardır. Melanomanın kemoterapi ile tedavisinde kullanılan ve FDA onaylı tek ilaç olan Dekarbazin'in etkisi tümör hücrelerinde çok az olmak ile birlikte 5 ila 11 ay arası sağkalım profili çizmektedir. Bireye ve aldığı doza göre değişiklik gösteren yan etkiler arasında yorgunluk, enfeksiyon riski, mide bulantısı, kusma, tırnaklarda meydana gelen değişimler, iştah kaybı, ishal, saç kaybı, sinirlerde hassasiyet gibi birçok ağır yan etkisi bulunmaktadır. Ancak melanomanın ilaç dirençli kanser türü olmasından kaynaklı olarak, kemoterapi ile tek başına tedavisi mümkün değildir (Domingues et al., 2018).

2.3.3.4.Topikal ve Transdermal uygulamalar

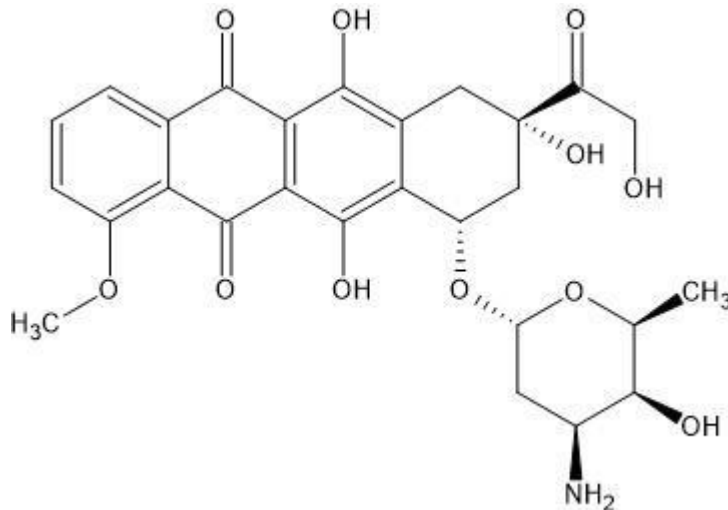
Tedavilerde kullanılan ilaçların hedeflenen hastalık bölgesine ulaşmadan önce, üstesinden gelmesi gereken birçok biyolojik engel vardır. Oral ve parantral uygulamalar bu engellere çok fazla takıldığı için hedef bölgeye az ve yetersiz miktarda ilaç taşınımı gerçekleşir. Melanoma tedavisinde topikal ve transdermal uygulamalar ile ilaç, doğrudan hedef bölgeye uygulanır ve biyolojik engellere çok az takılır. Böylece hastalık bölgesine daha fazla ilaç taşınımı sağlanmış olur. Ancak cilt katmanlarından biri olan stratum corneum, ciltte sağlam bir bariyer görevi görür ve

düşük ilaç alımı sorununa yol açmaktadır. Bunun sonucunda da düşük ilaç biyoyararlanımı görülmektedir. Bu da topikal ve transdermal uygulamaların yetersizliklerindendir (Cullen et al., 2020; Heenatigala Palliyage et al., 2019).

2.4. Antikanser İlaçlar

2.4.1. Doksorubisin

Doksorubisin (Dox) çeşitli kanser türlerinde kullanılan kemoterapik bir ajandır. Hem yetişkinlerde hem de çocuklarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. İlk olarak 1969 yılında *Streptomyces peucetius* var. *Caesius* mikroorganizmasından izole edilen antrasiklin antibiyotik ailesine aittir (Bernabeu, Moretton, and Chiappetta, 2016; Meredith and Dass, 2016). Dox'un moleküler yapısı Şekil 2.17'de de görüldüğü gibi, iki grubun bitişik kinon-hidrokinonlar ve daunosamin ile A halkasına bir glikozidik bağ ile bağlı olduğu bir tetrasiklik halka içerir. Tetrasiklin grubu suda çözünmezken, daunosamin şekeri Dox'un suda çözünürlüğünden sorumludur (Meredith and Dass, 2016). Kırmızı-turuncu renge sahip olan Dox nötr pH'a sahiptir ve ışığa duyarlılık göstermektedir (Sritharan and Sivalingam, 2021). 1974 yılında FDA onayı alan Dox tek başına ya da kombinasyon halinde katı ve hematogen kanserlerde tedavinin birinci basamağında sıklıkla kullanılmaya devam etmektedir (Renu et al., 2018; Sritharan and Sivalingam, 2021).



Şekil 2.17. Doksorubisin yapısı (ACD/Labs Software 6.0 programı ile çizilmiştir).

2.4.1.1.Etki Mekanizması

Dox bölünen hücrelerin nükleik asitlerine farklı mekanizmalar ile etki etmektedir. Birinci yol, DNA ipliklerinin baz çiftleri arasındaki interkalasyonu sonucunda replikasyon ve transkripsiyon işlemleri bloke edilir. Böylece hızla büyüyen hücrelerde DNA ve RNA sentezini inhibe edilmesine olanak sağlanır. Dox'un düzlemsel kromoforu DNA bazları arasına girer ve daha sonra bu pozisyonda hidrojen bağı ile stabilize edilir. Kromoforun hidroksil grubu ve daunosamin şekerinin amino grubu, DNA'ya bağlanma ve DNA'yı birleştirmeden sorumludur. Bu interkalasyon kompleksi, apoptoz indüksiyonu ile sonuçlanan, çift sarmallı DNA kırılmaları ve yoğun kromatinli parçalanmış çekirdekler oluşturur. Diğer bir yol ise, Dox'un kinon yapısı bir elektron alıcısı olarak redoks reaksiyonlarına katılır ve birkaç enzim tarafından bir semikinon serbest radikale dönüşür. Demir aracılı serbest radikallerin üretilmesi ile hücre zarlarında, proteinlerde ve DNA'da oksidatif hasarın oluşur. Böylece DNA'nın kendisinde hasara neden olabilir veya süperoksit, hidroksil radikalleri veya peroksit gibi reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek kinon formuna geri dönüştürülebilir. Aynı zamanda, ROS oksidatif strese, lipid peroksidasyonuna, membran ve DNA hasarına neden olabilir ve apoptozu tetikleyebilir (Cagel et al., 2017; Meredith and Dass, 2016).

Dox'un bir başka etki mekanizması ise, topoizomerez II'yi inhibe ederek DNA bölünmesi ve hücre ölümüyle sonuçlanan sitotoksik aktivite göstermesidir. Topoizomerez II, DNA'nın süper sarmal durumunu düzenleyen, birikmiş pozitif süper sarmalları gevşeten ve birbirine dolanmış DNA zincirlerini çözen bir enzimdir. DNA replikasyon işleminin tamamlanması için bu enzime ihtiyaç duyulmaktadır. Replikasyon sırasında, topoizomerez II, DNA'da çift zincir kırılmalarına neden olur. Topoizomerez II inhibitörü olan Dox, topoizomerez II-DNA kovalent bölünme ara maddelerini stabilize eder. DNA daha sonra replikasyon sürecinde daha fazla ilerleyemez ve hücre ölümü meydana gelir. DNA'nın replikasyonunu, transkripsiyonu ve süper sarmallı DNA'nın gevşemesi bloke edildiğinden onarımını büyük ölçüde önler. Dox kompleksten ayrıldığında topoizomerez II-DNA-ilacın kompleksi tersine döndüğü için ilacın kompleks içinde kalma süresi doksorubisinin

sitotoksitesinin belirleyici faktörlerindendir. Bu etki mekanizması, topoizomerez II seviyelerinin çoğalmaya devam eden hücrelerde yükseldiğini gösterdiği için Dox'un kanser hücrelerine seçiciliğini arttırmaktadır (Cagel et al., 2017; Meredith and Dass, 2016; Sritharan and Sivalingam, 2021).

2.4.1.2.Yan Etkileri

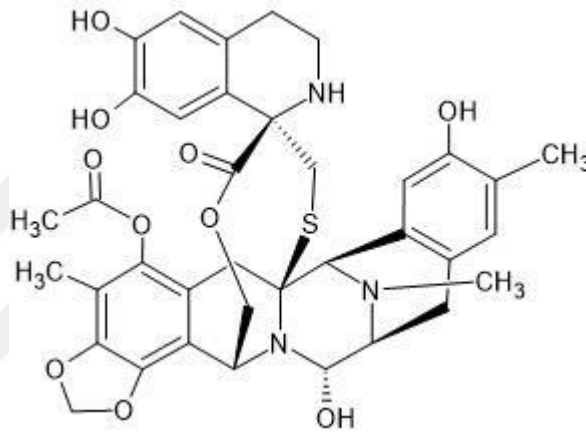
Oksidatif stres kardiyotoksitesinin ana nedenlerindendir. Dox'un kümülatif dozu yüzey alanını aştığı için oksidatif stresin oluşmasına neden olmaktadır. Dox'un en belirgin yan etkisi kalpte kronik toksisiteye yol açmasıdır. Ayrıca kardiyomiyositlerdeki mitokondriyal değişiklikler, doksorubisin kaynaklı kardiyotoksiste sırasında hücre içi organel değişikliklerinden biridir. Kardiyomiyositlerin kullandığı ATP'nin %90'ı mitokondri tarafından üretilir. Mitokondride gerçekleşen Dox kaynaklı yapısal değişiklikler ATP sentezinin durmasına sebep olur. Doksorubisin tedavisi sırasında, elektron taşıma zincirinin kompleks I'inde redoks döngüsünün azaltılması yoluyla yüksek bir reaktif oksijen türü üretimi gerçekleşir.

Kardiyolipin iç mitokondriyal zarın önemli bir bileşenidir. Kardiyolipinin anyonik yükü ve doksorubisinin katyonik yükü olduğu için karşılıklı bir afiniteye sahiptirler. Bu nedenle doksorubisin ve kardiyolipin, geri dönüşü olmayan bir şekilde birbirine bağlanır. Daha sonra doksorubisin mitokondri içinde tutulur ve bunun sonucunda oksijen türlerinin konsantrasyonunda bir artış olur. Reaktif oksijen türlerinin üretimindeki artış protein, yağ ve sinyal moleküllerinin oksidasyonuna sebep olur. Bu durum tamamen kardiyotoksiste ile sonuçlanarak Dox kullanımını sınırlandırır (Nesakumar et al., 2018; Renu et al., 2018; Shafei et al., 2017).

2.4.2.Trabektedin

Ticari adı Yondelis[®], ET-743 olan Trabektedin (Trb) Ecteinascidia turbinata olarak adlandırılan deniz yosunundan elde edilen kemoterapötik bir ajandır. İlk defa 1960 yılında izole edilmiştir. 23 Ekim 2015'te Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onay almıştır. Yapısal olarak bu molekül, şekil 2.18'de görüldüğü gibi, kaynaşmış üç tetrahidroizokinolin halkasından oluşan polisiklik bir yapı iskelesinden oluşur ve

C₂₁'de reaktif bir karbinolamin fonksiyonel gruba sahiptir. Tetrahidroizokinolin halkalarından ikisi, DNA çift sarmalının küçük oluğu ile etkileşim için çerçeve görevi görürken, üçüncü halka DNA dupleksinden çıkıntı yapar. Özellikle TC-NER sistemi ile bitişik nükleer proteinlerle etkileşimlere izin verir. Yüksek oranda proteine bağlanma özelliği vardır ve metabolitler fekal atılım ile elimine edilir. Trabektedin, A ve B'nin DNA'yı bağladığı ve C'nin transkripsiyon faktörleriyle etkileştiği A, B ve C olmak üzere üç alt birimden oluşur. Günümüzde yumuşak doku sarkomlarının tedavisinde kullanılan etkili bir antikanser ajandır (Dubois and Cohen, 2009; Mills and Gago, 2021; Monk et al., 2016).



Şekil 2.18. Trabektedin yapısı (ACD/Labs Software 6.0 programı ile çizilmiştir).

2.4.2.1.Etki Mekanizması

Trabektedin, indüklenmiş büyüme inhibisyonu ve malign hücrelerin ölümüne sebep olmakla birlikte, transkripsiyonun inhibisyonunun ve temel inflamatuvar mediatörlerin üretimini azaltarak tümör mikro ortamının etkilenmesini sağlar. Aktif transkripsiyonu inhibe ettiği mekanizma, uzama sırasında transkripsiyon yapan RNA polimeraz II'nin doğrudan bloke edilmesi aracılık eder, böylece proteazom yolu ile hızlı ve yoğun bozunma indüklenir.

Trb guaninleri DNA çift sarmalının minör oluğundaki N2 pozisyonundaki ekzosiklik amino grubuna kovalent olarak bağlar. S fazı boyunca hücre döngüsü ilerlemesini yavaşlatır ve G2'deki hücreleri tutuklar. Trabektedin-DNA eklentisinin,

hücrelerin transkripsiyonundaki DNA hasarını onarmaya çalışır. Buna zıt olarak, DNA bağlayıcı ve onarıcı proteinler olan TC-NER sistemini tuzağa düşürmekte ve ölümcül DNA zinciri kırılmalarını indüklemektedir. Trabektedinin antikanser etkilerinin bozulmamış bir TC-NER üzerindeki bu bağımlılığı DNA çift zincir kırıkları oluşturur ve apoptoza yol açan hücre döngüsünün bozulmasına neden olur (Dubois and Cohen, 2009; Larsen et al., 2016; Monk et al., 2016).

2.4.2.2.Yan Etkileri

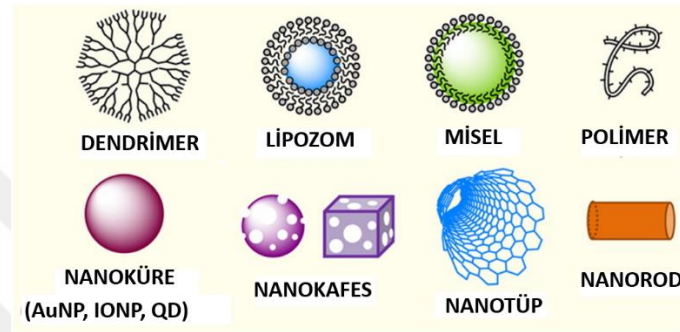
Trabektedinin hepatik transaminazlarda geçici yükselmeler, mielosupresyon, bulantı, kusma ve yorgunluk gibi yan etkiler oluşturmaktadır. Serum transaminaz seviyeleri, normal sınırının 20 katından fazlasına çıkabilir. Başlangıçta karaciğer anormallikleri olan hastalarda, trabektedine maruz kaldıktan sonra daha şiddetli akut toksisite oluşmaktadır. Hematolojik toksisite esas olarak nötropeni şeklinde kendini gösterir; ancak, ateşli nötropeni insidansı düşüktür. Trombositopeni ve anemi de az olmakla birlikte görülen yan etkilerdendir (Chuk et al., 2009).

2.5.Nanotaşıyıcı sistemler

Nanotaşıyıcılar, boyutları 1 ile 100 nanometre arasında çapa sahip olan kolloidal nanopartiküllerdir. Terapötik bir ajanın veya herhangi başka bir maddenin hedef bölgeye taşınması için yaygın olarak kullanılmaktadır (Chamundeeswari et al., 2019).

Geleneksel yollarla kullanılan ilaçlar genellikle gastrointestinal kanalda parçalanır veya etkili olmaları için gerekli olan kalitede yeterince emilemez. Nanotaşıyıcı sistemler ile hücresel düzeylere ilaç taşınımı arttırılır, ilaçların dolaşımında ya da dokulardaki konsantrasyonunu ve salım kinetikleri optimize edilir. Böylece düşük dozlarda etkin ve güvenli tedavi sağlanır. Nanotaşıyıcıların daha büyük yüzey-hacim oranı, bileşimi ve şekli gibi fiziksel özelliklerinin sunduğu avantajlar vardır. Bu özellikler sayesinde belirli bir ilaç konsantrasyonunda ilaç molekülleri vücut ile daha çok temas eder ve böylece aynı ilaç dozu ile hücresel iletimi daha etkili hale getirir. Azaltılmış dozaj ile ilacın toksik ve immunojenik özelliklerini en aza indirilir ve sağlıklı dokulara zarar vermeden hedef bölgede istenilen düzeyde farmakolojik yanıt elde edilebilmesine olanak sağlar. Tüm bunların

yanısıra dışı akış pompasının aşırı ekspresyonu, kendi kendini onarma kapasitesi, değişen hedefler veya ilacın artan metabolizması ile kanser hücreleri bir savunma mekanizması geliştirir. Nanotaşıyıcı sistemler ile bu savunma mekanizmalarının üstesinden gelinerek kolay tedavi imkanı sağlanır. Ayarlanabilir yüzey kimyası, uzun süreli ve sürekli ilaç salınımının gerçekleşmesine olanak sağlar. Bu durum ilacın en çok ihtiyaç duyulan yerde ve zamanda biyoyararlanımını iyileştirmekte ve ayrıca tek başına ilaçtan daha uzun süreli ilaç sirkülasyonu sağlanmaktadır (Chamundeeswari et al., 2019; Ding and Li, 2017).



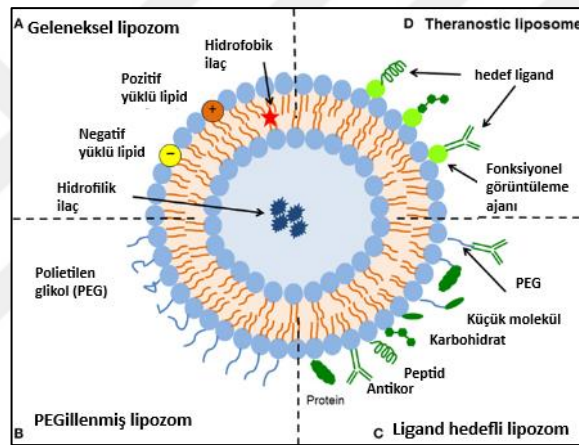
Şekil 2.19. Nanotaşıyıcı çeşitleri ve görselleri(Ding and Li, 2017)

Ayrıca lipofiliklik, stratum corneum tabakası boyunca cilt penetrasyonunu iyileştirmekte ve böylece ilaçların bu tabakadan geçişini kolaylaştırmaktadır. Bu sebeple lipid yapılı nanopartiküllerin kullanımı melanoma tedavisinde topikal uygulamalar için uygun bir ilaç taşıyıcı sistemdir (Heenatigala Palliyage et al., 2019).

2.5.1.Lipozomlar

Lipozomlar, ilaç dağıtım sistemlerindeki gelişmiş yaklaşımlardan biridir. Lipozomlar, antikanser ilaçları, antibiyotikler, anti-inflamatuar, genler ve antifungal ilaçların taşınımında kullanılan nanotaşıyıcı sistemlerdir. Lipozomlar 1965'te onaylanan ilk kapalı mikroskobik fosfolipid çift katmanlı sistemlerdir. Sulu bir ortamı diğerinden ayıran bir veya daha fazla çift katmanlı zardan oluşan dairesel yumuşak madde kesecikleridir. Fosfolipid molekülleri, esas olarak farklı polar baş gruplarından ve iki hidrofobik hidrokarbon zincirinden oluşur. Kutup grupları, zwitter iyonik veya negatif yüklü olabilir. Hidrokarbon zincir molekülleri farklı uzunluklara ve farklı doymamışlık derecelerine sahiptir.

Lipozomların oluşumu, sulu bir çözelti içinde kuru lipid filmlerin oluşturulması şeklinde kendiliğinden oluşur. Hidrofilik maddeler, sulu çekirdekte çözünür hale getirilir ve lipofilik ilaçlar, lipid çift tabakalarına dahil edilebilir. Bu açıdan bakıldığında hem lipofilik hem de hidrofilik ilaçların kapsüllenmesinde kullanılmaktadır. Bir ilaç dağıtım sistemi olarak lipozomlar, biyouyumluluk, kendi kendine bir araya gelme kapasitesi, büyük ilaç yüklerini taşıma yeteneği ve biyolojik özelliklerini kontrol etmek için değiştirilebilen çok çeşitli fizikokimyasal ve biyofiziksel özellikler dahil olmak üzere çeşitli avantajlar sunar. Lipozomlar karmaşık üretim yöntemleri, düşük yüzde tutma verimliliği ve büyük ölçekli üretim zorlukları gibi dezavantajlara sahiptir (Ahmed et al., 2019; Marta et al., 2014; Sercombe et al., 2015).



Şekil 2.20. Lipozom (Sercombe et al., 2015)

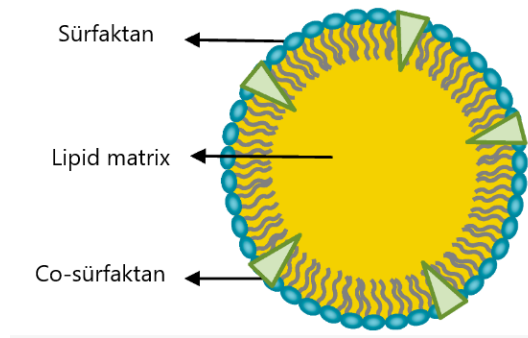
2.5.2. Katı Lipid Nanopartiküller

Katı Lipid Nanoparçacıklar (SLN), farklı moleküllerin terapötik etkisini geliştirmek için uygulanan çok yönlü nano taşıyıcılardır. Lipozomların dezavantajlarının üstesinden gelmek için ortaya çıkmışlardır. SLN'ler oda sıcaklığında katı halde bulunan lipidlerden, emülgatörler veya her ikisinin karışımından meydana gelmektedir. Yapısında ayrıca aktif farmasötik bileşenler ve solvent sistemi bulunmaktadır. Bununla birlikte, lipid matrislerinin kristal yapısı, yüksek kaliteli SLN formülasyonları elde etmek için çok önemli bir özelliktir. Lipid çekirdeği oluşturmak için en sık kullanılan malzemeler mono-, di- ve trigliseritler,

yağ asitleri, yağ alkoller ve mumlardır. Bu lipidler yüksek biyouyumluluk sergiledikleri ve erime noktaları vücut sıcaklığının üzerinde olduğu için tercih edilmektedir. Katı bir çekirdeğin oluşumu, kontrollü ilaç salımı veya partikül stabilitesi gibi SLN'lerin özelliklerini belirlediği için oldukça önemlidir. 50 ila 1000 nm arasında bir çapa sahip, genellikle küresel morfolojide, mikron altı boyutta kolloidal parçacıklardır.

Vücut sıcaklığında katı olan biyolojik olarak uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen lipidlerden oluşan SLN'ler ilaç dağıtım sistemlerinde tercih edilen nanotaşıyıcılardır. Ek olarak, dahil edilen ilacın kontrollü salınımını mümkün kılarlar ve kimyasal koruma sağlarlar. Dolayısıyla dahil edilen bileşiğe yüksek stabilite sağlarlar. Hem lipofilik hem de hidrofilik ilaçların kapsüllenmesine olanak sağlar. Büyük ölçekli üretime geçilmesi mümkündür.

Bunun yanısıra nanopartiküller, düşük ilaç yükleme kapasitesi ve SLN depolaması sırasında ilaç atılma olasılığı gibi yeniden kristalleşme süreci ile ilgili bazı dezavantajlara sahiptir. Tüm bunlar, bazı SLN preparasyonları tarafından gösterilen yüksek polidispersite ile birlikte, bu tip nanopartiküllerin endüstriyel üretimi için sınırlayıcı faktörler olabilmektedir (Bay et al., 2019; Duan et al., 2020).

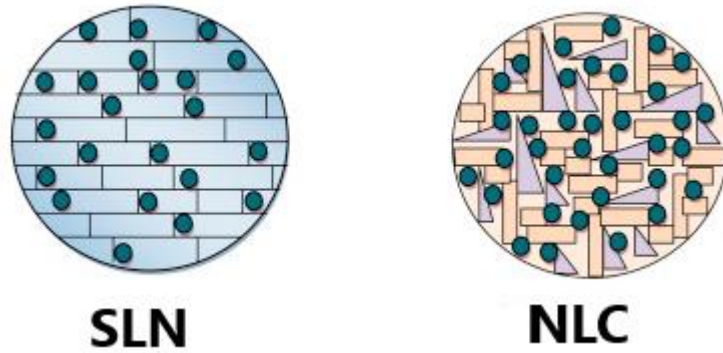


Şekil 2.21. SLN şematik gösterimi (Bay et al., 2019)

2.5.3. Nanoyapılı Lipid Taşıyıcılar

Lipid nanotaşıyıcılar, polimerik nanopartiküllere, lipozomlara ve emülsiyonlara alternatif olarak geliştirilmiştir. Özellikle SLN'ler ile ilgili sorunların

üstesinden gelmek için Muller tarafından 1999-2000 yılları arasında Nanoyapılı Lipid Nanotaşıyıcılar geliştirilmiştir. Bunlar ikinci nesil lipid taşıyıcılardır ve çeşitli terapötik yaklaşımlarda kullanılmaktadır. NLC'ler, ilaca dahil edilmiş matris oluşturmak için katı lipidlerin bir kısmının sıvı lipidlerle değiştirilmesiyle geliştirilmiştir. NLC'ler iki farklı lipid formundan oluşmaktadır. Bunlar; fizyolojik ve biyolojik olarak tamamen parçalanabilen katı lipidler ve terapötik maddelerin cilde taşınmasını sağlayan sıvı lipidlerdir. NLC'nin bileşimi; küçük ve kontrollü partikül boyutu, düzensiz kristal yapılar ve lipofilik ilaçların yüksek bağlanma oranı sayesinde yüksek ilaç yükleme kapasitesine sahiptir. İlaçların çoğunun doğada lipofilik olması sebebiyle sıvı lipidlerdeki çözünürlükleri NLC'nin gelişimi açısından anahtar bir faktördür. Bunun yanı sıra NLC'lerin biyoyumlu olmasından kaynaklı olarak organizma için toksisite seviyesi düşüktür. NLC'nin ortam içinde rijidizasyonu sırasında sıvı lipidlerin varlığından dolayı düzenli olmayan dağınık bir çekirdek oluşur. Bu tür bir çekirdek, daha yüksek ilaç yüklemesine ve ilacın barınması için yeterli alana izin verir. Bu nedenle depolama sırasında ilaç çekirdekten dışarı atılmaz ve yüksek stabilite sağlar. Formüle etme, hazırlama ve sulu bir ortamda artan dağılılabirlik özellikleri sayesinde hazırlanma prosedürü basittir. NLC hazırlama prosedürü, organik bir çözücü olmadan gerçekleştirilebilir bu açıdan biyoyumluluğu yüksektir. Ayrıca işlem, yüksek basınçlı homojenizasyon ile büyük parti boyutlarına kolayca ölçeklenebilir (Beloqui et al., 2016; Haider et al., 2020; Khosa et al., 2018; Salvi and Pawar, 2019).



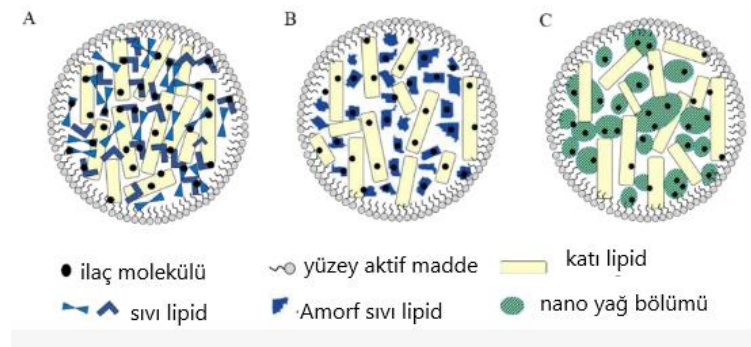
Şekil 2.22. SLN ve NLC yapısal olarak karşılaştırılması

NLC'lerin yapısal olarak üç farklı çeşiti vardır.

NLC Tip I: Kusurlu tip olarak da adlandırılmaktadır. Katı lipidin bir bölümünün sıvı lipid ile değiştirilmesi, kusurlu kristal matris oluşumuna neden olur. Böylece ilacın barınması için daha fazla yerin mevcut olduğunu gösterir ve daha yüksek ilaç yüklemesine izin verir. Kusurlu kristal çekirdeğin oluşumu, ilacın çekirdekten dışarı çıkmasına neden olan yüksek düzeyde yapılandırılmış veya düzenli matris oluşumunu engelleyerek, ilaç yüklenmesi için daha fazla alan sağlar.

NLC Tip II: Bu NLC tipi aynı zamanda amorf ya da yapısız tip olarak da bilinir. Katılaşma ve depolamadan sonra α polimorfunda kalan katı lipidlerin sıvı lipidlerle birlikte kullanımı amorf çekirdek oluşturma eğilimindedir. Bu, kristalleşme olmadığı ve ilaç amorf matris içinde gömülü kaldığı için tip I NLC'lere göre avantajlıdır. Katı lipidlerin β polimorfu, kristal yapıli matris geliştirir.

NLC Tip III: Bu, çoklu tiptir ve su içerisinde katı lipidleri içeren sıvı lipid taşııcılardan oluşmaktadır. Temel olarak, yalnızca faz ayırma tekniği ile geliştirilebilen, katı içinde lipid veya su içinde lipid tipi NLC'dir. İlaç lipidlerde daha yüksek çözünürlük gösterdiğinde, bu yaklaşım, ilaç yükleme kapasitesini ve stabilitesini geliştirmek için NLC'lerin formülasyonunda kullanılabilir. Minik lipid damlacıkları katı lipid matrisinde homojen olarak dağılır ve daha sonra bu sistem de sulu ortamda dağılır(Beloqui et al., 2016; Haider et al., 2020).



Şekil 2.23. A) Tip I NLC, B) Tip II NLC, C) Tip III NLC'lere ait yapısal şekilleri(Subramaniam et al., 2020)

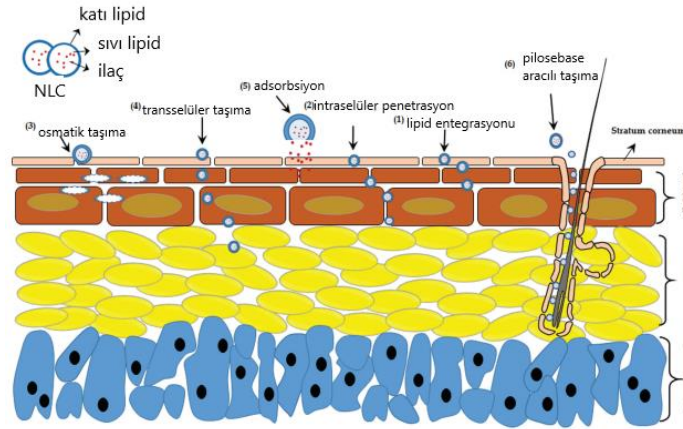
2.6.Transdermal İlaç Uygulamaları

2.6.1.Jel Formülasyonu

Topikal ve dermatolojik uygulamalar, uygulanan ilaçlara bağlı olarak cilt yüzeyine yapışmada güçlük, cilt katmanlarından zayıf geçiş ve hasta açısından uygulama zorluğu gibi sınırlamalarla karşı karşıyadır. Hidrojellerin keşfi ve 60 yılı aşkın bir süredir farmasötik formülasyonlarda hammadde olarak kullanılması sayesinde topikal uygulamalarda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Hidrojeller, önemli miktarda suyu emebilen üç boyutlu polimerik ağlardır. Hidrojellerin ana özelliği, polimerik zincirde hidrofilik ve hidrofobik grupların varlığı ile ilişkilidir. Bu gruplar arasındaki denge, %10 ila %99 seviyeleri arasında su emilimini mümkün kılar. Aynı zamanda yapısında sulu ortamda çözünmeyi önleyen çapraz bağlar mevcuttur. Çapraz bağlar, polimerik zincirin viskoz-elastik veya elastik davranış gösterip göstermediğini belirleyen ağları bağlamaktan sorumludur. Bir hidrojel tarafından emilen suyun hacmi, şişme kapasitesini tanımlayan polimerik ağların esnekliği ile sınırlıdır. Şiştiğinde, hidrojel o kadar çok su emer ki, polimerik ağlarında bulunan sıvının kütlesi, onu oluşturan polimerin kütlesinden daha büyük hale gelir. Bir hidrojinin su içeriği, yüklü ilaçların salım profilini değiştirme kapasitesi ile bu yapıya benzersiz özellikler sağlayan fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirler(Ataide et al., 2019).

NLC'lerin yapısındaki lipid partiküllerinin küçük boyutu, SC tabakası ile yakın temas sağlayarak cilt penetrasyonunu artırır. Cilt ile yakın teması mukozaya veya cilde nüfuz eden ilaç miktarını artırır. NLC jel, cilt üzerinde tek katmanlı bir lipid filmi oluşturur. Bu film trans-epidermal su kaybını önler. Böylece ciltte tıkalı etkiye neden olur. Cildin nem içeriğini artırır, cilt uzun süre nemli kaldığı için lipid filmin cilt üzerinde kalma süresi de artar ve bunun sonucunda uzun süreli ilaç salınımı gerçekleşir. Ayrıca NLC'nin bileşimlerindeki yüzey aktif maddelerin varlığı nano yapıların termodinamik stabilitesini artırılır. Sürfaktanların varlığı cildin geçirgenliği üzerinde de rol oynar çünkü bunlar cildin yapısında bozulmaya neden olabilir. Bu mekanizmanın fiziksel bir UV blokajına izin verdiği bilinmekte bu

yönden bakıldığında cildin güneşten korunmasına da imkan vermektedir(Beloqui et al., 2016; Imran et al., 2020).

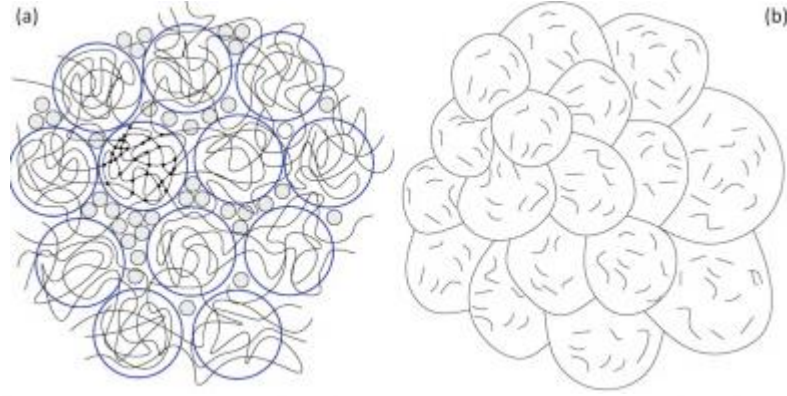


Şekil 2.24. NLC moleküllerinin cilt tabakasından geçişi(Sharma et al., 2017)

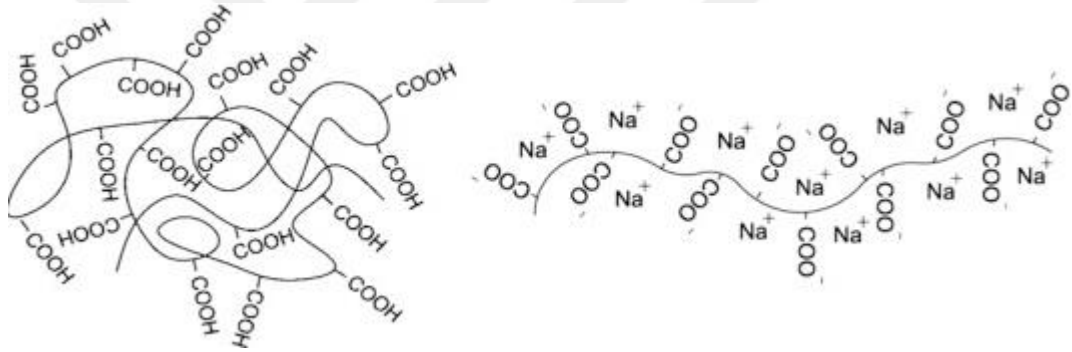
2.6.1.1.Karbopol 940 Jel

Karbopol polimeri, yüksek moleküler ağırlığına sahip olan karboksivinil, alil sakaroz gibi polietterlerin akrilik aside çapraz bağlanması ile oluşan homo ve kopolimerlerdir. Esas olarak metil ve metilen gruplarından oluşan asılı gruplar, tekrar eden birimlerin alternatif konfigürasyona sahip olduğu sindiyotaktik olarak düzenlenir. Kuru beyaz toz polimer, nötralizasyon ile başlangıç çapının 10 katına denk gelen ve başlangıç hacminin 1000 katına kadar şişen, ortalama çapı birkaç mikron olan parçacıklara sahiptir. Böylece bu parçacıklar su ile çevrelenen polimer zincirlerinin yüksek düzeyde çapraz bağlı yapısını tanımlar. Çapraz bağlı zincirler sıkı bir paketlenme sağlar ve çapı bir mikrondan daha küçük olan küçük küresel kürecikler oluşturur. Böylece polimer, küçük aglomere parçacıklarının büyük küresel varlıklar oluşturduğu hiyerarşik bir yapıya sahiptir. Polimerin kalınlaşma mekanizması Şekil 2.25'te şematik olarak gösterilmiştir. Polimer, toz halinde yüksek oranda kıvrılır, ancak çapraz bağlı yapı, suda dağıldığında çözünmeye başlar. Polimer ağının genişletilmiş yapısı, polimer ve baz arasındaki reaksiyonun polimer omurgası boyunca iyonlaşmaya yol açtığı bir bazın varlığında elde edilir. Ortaya

çıkan negatif yükler, elektrostatik itmeye ve dolayısıyla polimer zincirlerinin genişletilmiş yapıya doğru genişlemesine yol açar (Shafiei et al., 2018).



Şekil 2.25. Karbopol jelin şematik gösterimi a)seyreltik yapı b)sıkı paketlenmiş yapı(Shafiei et al., 2018)



Şekil 2.26. Carbopol 940 jelin yapısal gösterimi(Xu et al., 2020)

Tüm bunların yanısıra jelleştirici ajanlardan biri olan Karbopol 940 ile hazırlanan hidrojeller, cilt yüzeyine çok iyi yapışarak ilacın sürekli ve kontrollü salınımını gerçekleştirir. Ayrıca cilt içeriğinde yüksek koruma sağlayarak ilacın seçiciliğini arttırmaktadır(Xu et al., 2020).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Materyal

Kullanılan kimyasallar; Karbopol 940 Acros Organics'ten, trietanolamin (TEA) Carlo Erba'dan, f3tal sığır serumu (FBS) (heat inactivated) Capricorn markasından, sodyum klorür (NaCl), potasyum klorür (KCl), disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) Isolab'tan, BSA, dimetil s3lfoksit (DMSO) Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir.

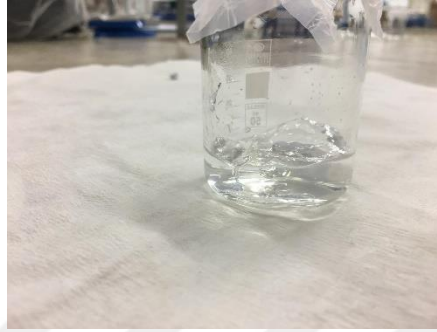
Kullanılan cihazlar; Hasas terazi (Ohaus), santrif3j (Sigma, 2-16KL), 3oklu ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica), mekanik karıştırıcı (WiseStir HS-100D), pH metre (HANNA Edge), Viskozimetri (Brookfield DV-II+Pro, İzmir Ege 3niversitesi İla3 Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma- Uygulama Merkezi(ARGEFAR)), Zetasizer (Malvern Panalytical ZSU3305, İzmir Ege 3niversitesi ARGEFAR), Taramalı elektron mikroskobu (SEM)(Kritik Nokta Kurutucu Leica EM CPD300, Ege 3niversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (MATAL)), Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) (TA Instruments Q20 DSC, Ege 3niversitesi MATAL), stabilite kabinleri (N3ve TK 600, İzmir Ege 3niversitesi İla3 Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma-Uygulama Merkezi), su banyosunda (Memmert), Y3ksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)(İzmir Ege 3niversitesi ARGEFAR), UV-Vis spektrofotometre (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis), santrif3j (Hettich 1204), orbital karıştırıcı (Heidolph Unimax 1010).

3.2. Metot

3.2.1. Boş Karbopol 940 Jel Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Topikal kullanıma uygun olarak jel form3lasyonunun hazırlığı Khan ve arkadaşları, Malik ve Kaur, ve Ahmed ve arkadaşları tarafından uygulanan y3ntemler dikkate alınarak ger3ekleştirilmiştir. %1'lik konsantrasyonda olacak şekilde 100 mg karbopol 940 azar azar 10 mL d-su i3erisine eklenerek gece boyu oda sıcaklığında, 800 rpm'de karıştırılmıştır. (Ahmed et al., 2019; Khan et al., 2015; Malik and Kaur,

2018). Ardından çözelti içerisine mekanik karıştırıcı yardımıyla 1200 rpm'de karıştırma esnasında 100 µL TEA damlatılarak çözelti ~pH'ı 6 civarına getirilip nötralize edilmiştir (Ankita et al., 2020). Daha sonra jel içerisindeki hava kabarcıklarının giderilmesi için 10 dakika boyunca oda sıcaklığında 2000 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Bu şekilde jel oluşturma işlemi tamamlanmış ve jel sonraki kullanımlar için +4 °C'de saklanmıştır.



Şekil 3.1. Boş karbopol 940 Jelin hazırlandıktan sonraki görüntüsü

pH testi: Jelin pH'ı oda sıcaklığı koşullarında ve üç tekrarlı olacak şekilde analizlenmiştir.

Viskozite testi: Jel örneğinin viskozite testleri, Viskozimetre cihazı T96 Spindle ile 100 rpm karıştırma hızında ve üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Partikül boyut, polidispersite indeksi ve zeta potansiyel analizi: Analiz için 0,2 g jel üzerine 10 mL d-su eklenmiş ve prob-tip sonikatör ile 1 dakika boyunca homojenize hale getirdikten sonra 20.000 kat seyreltilmiştir. Analizler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

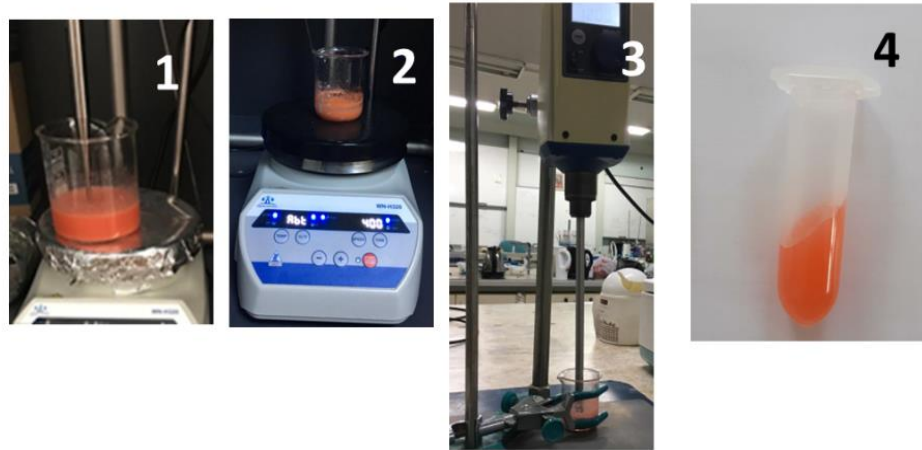
DSC analizi: Karbopol 940 jel örneklerinin DSC analizleri 10 °C/dk'lık bir tarama hızında 20-250 °C sıcaklık aralığında ve azot gazı altında yapılmıştır.

3.2.2. DTP-NLC yüklü Karbopol 940 Jelin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

219S788 numaralı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 1001 projesi kapsamında melanoma hücrelerinin yüksek oranda ekspresse ettiği bilinen LAT-1 taşıyıcıları hedeflemeye yönelik DSPE-PEG-Tirozin konjugatı geliştirilmiştir. Yine aynı proje kapsamında Doksorubisin ve Trabektedin

ikili ilacı içeren, DSPE-PEG-Tirozin konjugatı ile melanoma hücrelerine hedefli hale getirilmiş nanoyapılı lipid taşıyıcıların (DTP-NLC) sentezi gerçekleştirilmiştir.

DTP_NLC içeren jelin hazırlığı da karbopol 940 jelin hazırlığına benzer şekilde gerçekleştirilmiştir. 0,4 gram nanotaşıyıcı içeren DTP-NLC'nin 10 g sulu süspansiyonu içerisine 100 mg karbopol 940 azar azar eklenmiş ve gece boyu oda sıcaklığında, 800 rpm'de karıştırılmıştır. Ardından mekanik karıştırıcı altında 1200 rpm'de karıştırılırken 100 µL TEA damlatılarak ~pH'ı 6 civarına getirilmiştir. Ardından hava kabarcıklarının giderilmesi için 2000 rpm'de oda sıcaklığında 10 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır. Formülasyon, hazırlanan süspansiyonun en yüksek konsantrasyonunda; ağırlıkça % 1 karbopol, % 4 DTP-NLC ve TEA içerecek şekilde hazırlanmıştır.



Şekil 3.2. 1) DTP-NLC'nin sonik prob ile dipserse edilirken görüntüsü, 2) Karbopol 940 eklendikten sonra gece boyu karışmasına ait görüntü, 3) TEA ekledikten sonra mekanik karıştırıcı karıştırılması, 4) DTP-NLC jelin görüntüsü

Boş karbopol 940 jeli olduğu gibi DTP-NLC yüklü karbopol 940 jeli de pH, viskozite, partikül boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyel ve DSC analizleri yapılmıştır. DTP-NLC jeli ek olarak SEM ve etken madde analizi yapılmıştır.

SEM analizi: Jel örneği Kritik Nokta Kurutucu Leica EM CPD300 cihazı kullanılarak kurutulmuştur. Ardından Au/Pd kaplama yapılarak analizlenmiştir.

Etken Madde: DTP-NLC içeren jelin etkin madde miktar tayini için 0,5 g jel 10 mL DMSO içerisinde çözülmüştür. DMSO hem doksorubisin hem de trabektedinin çözücüsü olduğundan tercih edilmiştir. Berraklaşan çözelti 0,45 µm por çaplı filtre membranlardan süzildükten sonra HPLC analizi yapılmıştır.

3.2.3. In Vitro İlaç Salımı

İlaç salım çalışması için DTP-NLC jel kullanılmıştır. Salım testlerinde selüloz diyaliz membran (MWCO 12.000-14.000 Da, Dialysis tubing cellulose membrane, D9777-100FT, Sigma Aldrich) kullanılmıştır. Salım ortamları olarak 10 mM pH 7.4 fosfat tamponu (fizyolojik ortam) ve 10 mM pH 5 asetat tamponu (asidik ortam) hazırlanmıştır. 1,5 mg Dox ve 47,5 µg Trb içeren DTP-NLC jel membranlara eklenerek ilaç salımları incelenmiştir. Salım ortamları 30. dak- 55. saatlerde toplanarak yerine taze ve aynı sıcaklıktaki tamponlar ilave edilmiş ve sink koşullar sağlanmıştır. Toplanan fazlarda hem doksorubisin hem de trabektedin HPLC analizleri yapılarak ilaç salım yüzdeleri (eşitlik 1) hesaplanmıştır.

$$\text{İlaç salımı (\%)} = \frac{\text{ortama salınan ilaç miktarı (\mu\text{g})}}{\text{başlangıçta eklenen ilaç miktarı (\mu\text{g})}} \times 100 \quad (1)$$

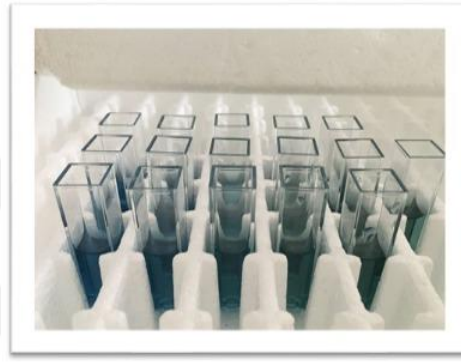
3.2.4. Biyouyumluluk Çalışmaları

3.2.4.1. Protein Bağlama

İlaç taşıyıcı sisteme protein bağlanma oranlarının belirlenmesi için Cole ve arkadaşları ile Semete ve arkadaşları tarafından uygulanan yöntemlerden yararlanılmıştır (Cole et al., 2011; Semete et al., 2012b). NLC, PNLC ve DTP-NLC örnekleri tuzlu fosfat tampon (PBS) ile 0,5 mg/mL konsantrasyona seyreltilmiştir. Fötal sıgır serumu ise PBS ile % 60 (v/v) oranda seyreltilmiştir. Serum proteinlerinin nanotaşıyıcı sisteme oranı 10:90, 20:80, 40:60 ve 60:40 (v/v) ve son hacim 600 µL olacak şekilde serum protein ve NLC karışımları hazırlanmıştır. Fötal sıgır serumu ile NLC örnekleri orbital karıştırıcıda 160 rpm ve 37°C’de 2 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda 13.000 rpm’de 1 saat santrifüj yapılmıştır. Süpernatant örneklerinde protein miktarı Bradford metoduna göre tayin edilmiştir (Bradford, 1976). Hazırlanan Bradford reaktifinden 2 mL alınarak 100 µL supernatant üzerine

eklenmiş ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon sonucunda örneklerin absorbansları UV-Vis spektrofotometre cihazında 595 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Hazırlanan standart grafiği yardımıyla başlangıçta eklenen protein miktarları ve nanotaşıyıcıya bağlanmayan protein miktarları bulunmuştur. Başlangıçta eklenen protein miktarından bağlanmayan protein miktarı çıkartılarak nanotaşıyıcılara bağlanan protein miktarlarına ulaşılmıştır. Eşitlik 2 yardımıyla da nanotaşıyıcıya protein bağlanma yüzdeleri hesaplandı.

$$\text{Protein Bağlama (\%)} = \frac{\text{Bağlanan protein miktarı (mg)}}{\text{Başlangıçta eklenen protein miktarı (mg)}} \times 100 \quad (2)$$



Şekil 3.3. Protein bağlama deney düzeneği

3.2.4.2. Hemoliz Testi

Nanotaşıyıcının yaratabileceği hemoliz miktarlarının belirlenmesi için Meyer ve Yallapu tarafından kullanılan yöntemden yararlanılmıştır (Meyer, Sunshine, Green, and Tissue, 2016; Yallapu et al., 2015). NLC, P-NLC ve DTP-NLC örnekleri PBS ile 0,5; 0,25; 0,1; 0,05 mg/mL konsantrasyonlarına seyreltilmiştir (Zhao, Tang, Yang, and Wang, 2018). Öte yandan EDTA'lı tüpe alınan tam kan 3000 rpm'de 10 dakika santrifürlenerek eritrositlerin çöktürülmesi sağlanmıştır. Eritrositler iki defa PBS ile yıkanmış ve % 2 hematokrit elde edecek şekilde PBS ile seyreltme yapılmıştır. 1 mL nanotaşıyıcı sistem ile 1 mL eritrosit süspansiyonu orbital karıştırıcıda 160 rpm ve 37°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Eritrositler ayrıca 1:1 (v/v) oranlarında negative kontrol grubu olarak PBS ile ve pozitif kontrol olarak da %1 Triton X-100 ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde tüm örnekler eritrositlerin çöktürülmesi için 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üst

fazlar 13.000 rpm'de 1 saat tekrar santrifüj edilerek nanotaşıyıcının çöktürülmesi sağlanmıştır. Süpernatant fazda spektrofotometrik olarak 540 nm'de absorbans ölçümü yapılarak hemoglobin tayini yapılmıştır.

3.2.5. Stabilite Çalışmaları

DTP-NLC yüklü jelin raf ömrünün anlaşılması için stabilite çalışmaları yapılmıştır. DTP-NLC içeren jel hazırlanıp 12 ay boyunca 5 ± 3 °C'de (Uğur), 25 ± 2 °C / %60 $\pm$ 5 bağıl nemde ve 30 ± 2 °C/ %65 $\pm$ 5 (Nüve TK 600)) bağıl nemde; 1, 2,3 ve 6 ay boyunca ise 5 ± 3 °C, 25 ± 2 °C / %60 $\pm$ 5, 30 ± 2 °C/ %65 $\pm$ 5 ve 40 ± 2 °C / %75 $\pm$ 5 bağıl nemdeki kabinlerde saklama işlemine başlanmıştır. Stabilite çalışmalarında belirli periyotlarda alınan örneklerin pH, viskozite, partikül boyut, boyut dağılımı, zeta potansiyel ve etkin madde analizleri gerçekleştirilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Boş Karbopol 940 Jelin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Xu ve arkadaşları Karbopol 940'dan elde edilen hidrojelinde cilde iyi yapışması nedeniyle, sürekli olarak ilacı yerinde bırakabildiği, ilacın seçiciliğini artırabildiği ve böylece melanoma tedavisinde ilaç dozunu azaltabildiği sonucuna varmışlardır (Xu et al., 2020). Karbopoller, polialkenil eterler veya divinil glikol ile çapraz bağlanmış akrilik asit polimerleridir. Hidrofilik yapıları nedeniyle, karbopollerin çapraz bağlı yapıları, onları topikal kullanım için jel tipi formülasyon olarak kullanımında potansiyel adaylar haline getirir. Karbopol 940 çok yüksek moleküler ağırlığına sahiptir. Bu nedenle cilde etkili bir şekilde nüfuz etmeleri için yağ bazlı araçlara ihtiyaç duyarlar. Transdermal formülasyonların fazla asidik veya bazik olması cilt ortamının pH'ını değiştirebilir ve cilt tahrişine neden olabilir, bu sebeple pH'ın ayarlanması büyük önem taşır. Trietanolamin jelin stabilitesine yardımcı olmak ve asidik karbopol dağılımını nötralize edebilmek için kullanılmaktadır. Trietanolamin ile pH ayarı yapılarak ~pH 6,0 civarında yani cilt pH'ına uygun bir değerin elde edilmesi sağlanmaktadır (Fetih, 2010).

Tablo 4.1. Boş karbopol 940 jele ait pH, Viskozite, Hidrodinamik boyut, PDI ve Zeta potansiyel sonuçları

pH	Viskozite (cp)	Hidrodinamik Boyut (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
6,08 ± 0,02	13660 ± 282,84	106,6 ± 12,96	0,85± 0,06	-22,24 ± 2,78

pH Testi

Tez kapsamında hazırlanan boş karbopol 940 jelin pH'I Tablo 4.1'de belirtildiği gibi 6,08 olarak belirlenmiştir. Das ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada karbopol 940 jelinin pH'ı 5,98–6,06 değer aralığında olduğu belirtilmiştir (Das, Nayak, and Nanda, 2013). Guleri ve Preet yaptıkları çalışmada %1'lik karbopol 940 jelinin pH'ı 6,52 olarak ölçülmüştür (Guleri and Preet, 2013). Shukr ve Marwa yaptıkları çalışmada karbopol 940 jelinin pH'ı 6,8 değerinde olduğu belirtilmiştir (Shukr and Marwa 2013). pH değeri verilen çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

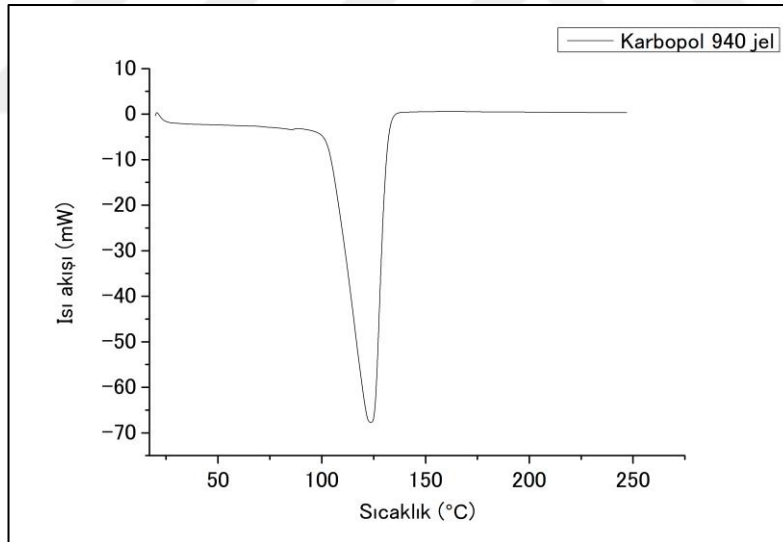
Viskozite Testi

Hazırlanan boş karbopol 940 jelin viskozite değeri Tablo 4.1’de verildiği gibi 13660 cp’dir. A-sasutjarit ve arkadaşları yaptıkları çalışmada karbopol 940 jelinin viskozitesinin 10018 cp olduğunu belirtmiştir (A-sasutjarit et al., 2005). Viskozite sonucu literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Hidrodinamik boyut, PDI ve Zeta potansiyel

Karbopol 940 jelin, Tablo 4.1’de de görüldüğü üzere, hidrodinamik boyutu 106,6 nm, PDI değeri 0,85 ve zeta potansiyel değeri -22,24 mV olarak belirlenmiştir. Laureate ve arkadaşları yaptığı çalışmada, karbopol 940 jelinin hidrodinamik boyutunu 114 nm ve zeta potansiyel değerini -37,7 mV olarak bulmuştur (Eid et al., 2013). Mohamed ve Eid tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada da karbopol 940 jelinin hidrodinamik boyutu 113 nm ve zeta potansiyel değeri -34 mV olarak belirlenmiştir (Laureate et al., 2015). Bahsedilen çalışmalar tez kapsamında elde edilen sonuçlarla uyumluluk göstermektedir.

DSC analizi



Şekil 4.1. Karbopol 940 jele ait DSC eğrisi

Hazırlanan karbopol 940 jelin DSC eğrisi Şekil 4.1’de verilmiştir. DSC analizi sonucunda erime sıcaklığının 123,71°C olduğu sonucuna varılmıştır. Wen ve arkadaşları hazırladıkları Karbopol 940 jelinin DSC analizi sonucunda erime sıcaklığını 116 °C olarak bulmuştur (Wen et al., 2012). Patil ve arkadaşları ise Karbopol 940 jelinin erime sıcaklığını 117,47 °C olarak belirlemiştir (Patil et al.,

2015). Tez kapsamında elde edilen sonuç literatür ile kıyaslandığında benzerlik göstermektedir.

4.2. DTP-NLC yüklü Karbopol 940 Jelin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Deri katmanlarından biri olan Stratum korneum, topikal gönderimde düşük ilaç alımı sorununa yol açmakta bunun sonucunda da ilaç düşük biyoyararlanım gösterebilmektedir. Küçük boyutlu NLC'ler cilt ile yakın teması sağlar ve cilde nüfuz eden ilaç miktarını artırır. NLC jelinin topikal uygulaması, cilt üzerinde tek katmanlı lipid filmi oluşturur, bu da trans-epidermal su kaybını önler, böylece tıkaçıcı etkiye neden olur ve cildin nem içeriğini artırarak cildi nemli tutar(Imran et al., 2020).

Tablo 4.2. DTP-NLC jele ait pH, Viskozite, Hidrodinamik boyut, PDI ve Zeta potansiyel sonuçları

pH	Viskozite (cp)	Hidrodinamik Boyut (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
6,01 ± 0,05	13689 ± 101,89	149,60± 20,93	0,474 ± 0,02	-34,52 ± 13,16

pH Testi

DTP-NLC jelin pH değeri Tablo 4.2’de verildiği gibi 6,01’dir. Pandey ve arkadaşlarının 2020 yılında NLC yüklü karbopol 940 jel ile yaptıkları çalışma sonucunda pH değerini 5,4 olarak ölçmüşler ve jelin cilt ile uyumlu olabilmesi için pH’ın 4-6 değer aralığında olması gerektiğini vurgulanmışlardır (Pandey et al., 2020). Fatima ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı çalışmada NLC yüklü %1’lik karbopol 940 jelin pH değeri 6,14 olarak bulunmuştur (Fatima et al., 2019). Sharma ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NLC yüklü karbopol 940 jelinin pH değerinin 5,44 olduğu bildirilmiştir (A. Sharma et al., 2020). Bahsedilen literatürlere uygun olarak boş karbopol jelin ve DTP-NLC yüklü jelin pH değerleri arasında fark bulunmamakla birlikte DTP-NLC yüklü jelin dermal kullanım açısından pH değerinin uygun olduğu belirlenmiştir.

Viskozite Testi

DTP-NLC jelin viskozite değeri Tablo 4.2’de belirtildiği gibi 13689 cp’dir. Fatima ve arkadaşlarının 2019 yılındaki çalışmasında NLC yüklü %1’lik karbopol 940 jelinin viskozite değerinin 9130 cp olduğu bildirilmiştir (Fatima et al., 2019).

Pandey ve arkadaşlarının 2020 yılında NLC yüklü karbopol 940 jeli ile yaptıkları çalışmada sonucunda 100 rpm karıştırma hızında ölçülen NLC yüklü jelin viskozitesinin 15000 cp değerinde olduğu belirlenmiştir (Pandey et al., 2020). Ayrıca bu değer cilt yüzeyine kolaylıkla sürülebilen ve cilt yüzeyinde alıkonulabilen bir değere karşılık geldiği de vurgulanmıştır. Çalışmamda boş karbopol jel ile DTP-NLC yüklü jel arasında viskozite açısından neredeyse bir fark yoktur ve hazırlanan DTP-NLC jelin deri yüzeyine uygulanabilecek uygun viskoziteye sahip olduğu verilen literatürler ile desteklenmektedir.

Hidrodinamik boyut, PDI ve Zeta potansiyel

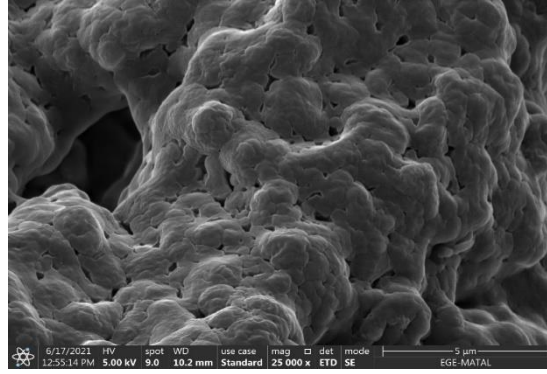
DTP-NLC yüklü jelin hidrodinamik boyut, PDI ve zeta potansiyel değerleri Tablo 4.2’de verilmiştir. Tez çalışmamda DTP-NLC jelin hidrodinamik boyutu boş karbopol 940 jeline göre daha büyük olarak belirlenmiştir. Jel yapısındaki ağlara DTP-NLC partiküllerin girişiyle boyutların hem boş karbopol jele hem de DTP-NLC partikül grubuna göre bir miktar artmış olabileceği düşünülmektedir. Karbopol jelin poliakrilik polimeri olduğu bilindiğinden zeta potansiyel değerinin negatif çıkması beklenen bir sonuçtur, yapıya eksi yüklü DTP-NLC katılmasıyla negatif yükün mutlak değerinde de artış yaşanmış, başka bir deyişle sonuç negatif değere yaklaşmıştır. Ayrıca DTP-NLC jelin PDI değeri 0,5’in altında olduğundan partikül boyut dağılımının heterojen olmadığı düşünülmektedir.

Song ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, karbopol 940 jele NLC yüklenmiş bunun sonucunda NLC yüklü jelin boyutunun 210 nm olduğu belirlenmiş ve NLC ile kıyaslandığında NLC yüklü jelin boyutunda artış olurken zeta potansiyel değerinde çok fazla bir değişim görülmemiştir (Song et al., 2014). Journal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, NLC’nin hidrodinamik partikül boyutu 88,5 nm iken karbopol 940 jele yüklenmesi durumunda 96,8 nm’ye artış göstermiştir (Journal et al., 2017). Çalışma sonucumda da DTP-NLC ile kıyaslandığında DTP-NLC yüklü jelin hidrodinamik boyutunda artış olmuştur. Han ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NLC yüklü karbopol 940 jelin partikül boyutunun 124 nm ve zeta potansiyel değerinin -28,5 mV olduğu belirlenmiştir. Ayrıca NLC’lerin jele yüklenmesinden sonra partikül boyutu sonuçlarına göre partikül agregasyonunun olmaması, NLC’nin jel içinde stabil kaldığı ve bu stabilitenin cilt ile temas halinde etkisini ve etki etme

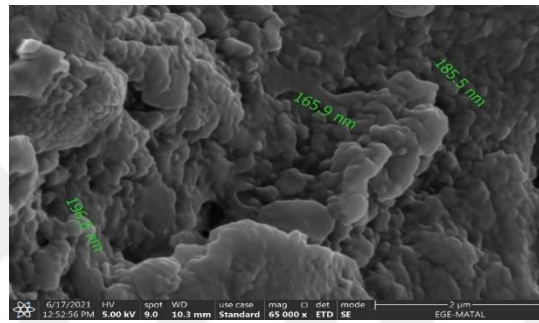
süresini destekleyeceği belirtilmiştir. Bunun yanısıra negatif yük ve artan zeta potansiyel değerinin elektrostatik itme ile beraber artan stabilite sağladığı vurgulanmıştır (Han et al., 2012). Khurana ve arkadaşlarının NLC yüklü jel ile yaptıkları çalışmada, partikül boyutu 195,33 nm ile 210,66 nm aralığında ve zeta potansiyel değerinin -25,66 mV ile -27,33 mV değerleri aralığında ölçülmüştür. Elde edilen küçük boyuttaki nanopartiküllerin hücre içi yollardan stratum corneum'un içine girebilmesi sebebiyle partikül boyutunun transdermal uygulamalarda nanometrik partiküllerin uygunluğunu gösteren önemli bir parametre olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmadaki boyut ve potansiyel değerlerinin transdermal uygulamalar için uygun olduğu vurgulanmıştır (Khurana, Jain, and Bedi, 2013). Literatür bilgileri ışığında hazırlanan DTP-NLC jelin dermal uygulama için uygun partikül boyutu ve zeta potansiyel değerine sahip olduğu söylenebilmektedir.

SEM Analizi

Karbopol 940 kullanılarak hazırlanan DTP-NLC yüklü jellerin SEM görüntüsü düşük ve yüksek büyütmede sırasıyla Şekil 4.2 ve 4.3'te gösterilmektedir. DTP-NLC örneğine benzer olarak DTP-NLC jelin görüntüsü küresele yakın ve partikül boyut sonuçları ile uyumludur. Song ve arkadaşları karbopol 940 ile hazırladıkları jellere NLC yüklemiş ve SEM analizi sonucunda boyutları 210 nm civarında ve küresel morfolojide yapılar elde etmişlerdir (Song et al., 2014). 2019 yılında Fatima ve arkadaşları tarafından yapılan NLC yüklü %1'lik karbopol 940 jelin SEM görüntüsünde boyutları 130 nm civarında ve küresel morfolojide yapılar görülmüştür (Fatima et al., 2019). Sonuç olarak, çalışmamızda literatürde elde edilen morfolojiye uygun görüntülere ulaşılmıştır.



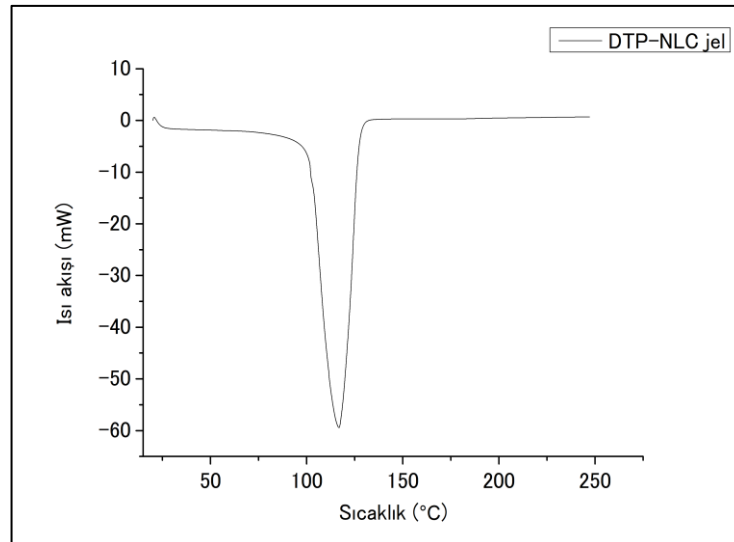
Şekil 4.2. DTP-NLC yüklü jelin düşük büyütmedeki SEM görüntüsü.



Şekil 4.3. DTP-NLC yüklü jelin yüksek büyütmedeki SEM görüntüsü.

DSC Analizi

DTP-NLC jele ait DSC eğrisi şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4. DTP-NLC jele ait DSC eğrisi

Yapılan DSC analizi sonucunda DTP-NLC jelinin erime sıcaklığı 116,83 °C olduğu belirlenmiştir. Khurana ve arkadaşları katı lipid olarak setil palmitat ve sıvı lipid olarak kaprilik asidi kullanarak oluşturdukları NLC'lere karbopol 940 ekleyerek jel hazırlamışlardır. DSC analizi sonucunda erime sıcaklığını 99,48 °C olarak ölçmüşlerdir (Khurana et al., 2013). Çalışma kapsamında DTP-NLC partikül grubuna göre DTP-NLC jelin erime sıcaklığı karbopol jel içerisine karıştıktan sonra daha yüksek sıcaklığa erişmiş ve literatüre uygun şekilde 116,83 °C değeri yeni erime sıcaklığı olarak belirlenmiştir.

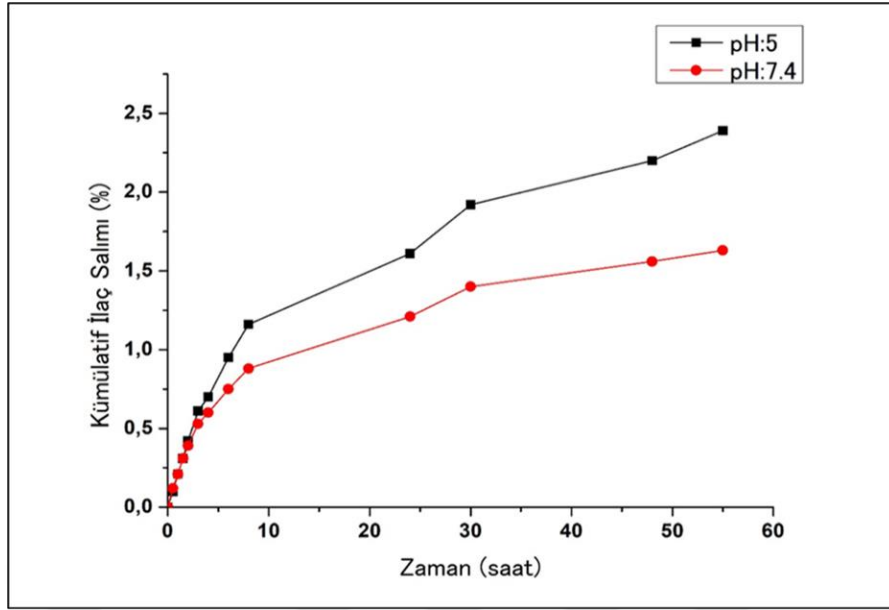
Tüm karakterizasyon test sonuçları dikkate alındığında dermal yoldan melanoma tedavisinde kullanıma uygun jel geliştirildiği düşünülmektedir.

Spesifikasyonun uygunluğu belirlendikten sonra DTP-NLC jel büyük miktarda hazırlanıp stabilite testi için çalışmalar başlatılmıştır.

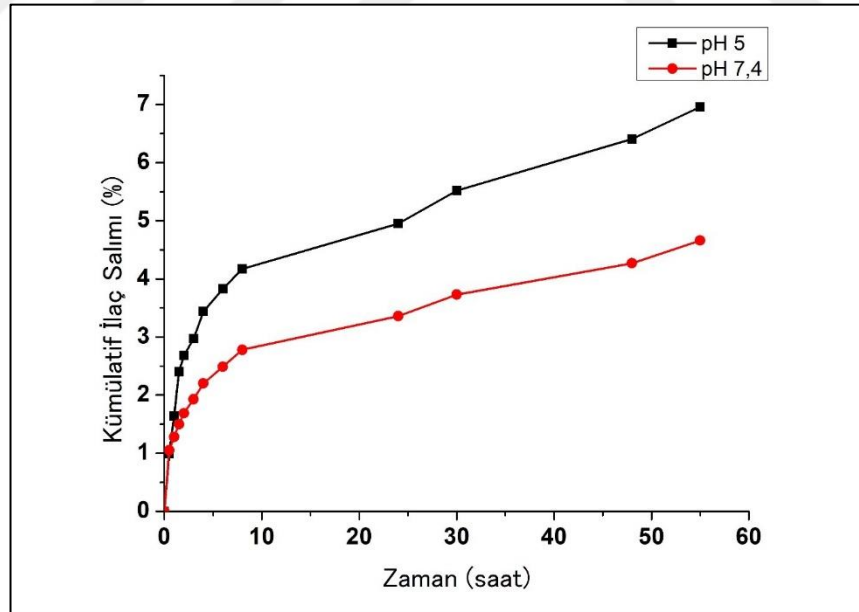
4.3. In Vitro İlaç Salımı

4.3.1. DTP-NLC jele ait ilaç salımı

DTP-NLC yüklü jele ait Dox ve Trb % salım değerleri sırasıyla Şekil 4.5 ve 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.5. Dokсорubisinin DTP-NLC jel formülasyonundan pH 7,4 ve pH 5 tamponlarındaki zamana bağlı salımı



Şekil 4.6. Trabektedinin DTP-NLC jel formülasyonundan pH 7,4 ve pH 5 tamponlarındaki zamana bağlı salımı

Doksorubisin, DTP-NLC jel örneğinden pH 5'te 55 saatte yaklaşık %2,5 salım gösterirken pH 7,4'te yaklaşık %1,5 salım göstermektedir. Trabektedin, DTP-NLC jel örneğinden pH 5'te 55 saatte yaklaşık %7 salım gösterirken pH 7,4'te yaklaşık %4 salım göstermektedir. Salım verileri incelendiğinde DTP-NLC jel formülasyonundan ilaçların salımı DTP-NLC örneğine göre daha az salım yüzdesi göstermektedir.

Ahmed ve arkadaşları ikili ilaç içeren lipozom sentezi gerçekleştirmiş ardından bu formülasyonu karbopol jele yüklemişler ve ilaçların salım profillerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada doksorubisin ve selekoksib içeren lipozom yüklü jel formülasyonu ilk saatlerde yaklaşık %10 salım gösterirken, son saatlerde sabit hale gelen bir salım profili ile %17'e ulaşmıştır. Yapılan bu çalışmanın sonucunda da jel ile birlikte deri penetrasyonu artışı gözlenerek ilacın geç ve yavaş salım gösterdiği görülmektedir (Ahmed, et al., 2019). Rezk ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da hidrojelden ilaç salımı için farklı pH değerlerinde testler gerçekleştirilmiş ve asidik pH değerlerinde daha yüksek salım olduğu görülmüştür. Yapılan bu çalışmada fizyolojik pH olan 7,4'te salım çok az seviyede gerçekleşirken tümör dokunun asidik pH değerlerinde yüksek salım gösterdiği de kaydedilmiştir (Rezk et al., 2019). Gupta ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada ise karbopol jelde farklı pH değerlerinde salım profillerini incelemişler ve asidik pH değerlerinde daha yüksek salım gerçekleştirdiği görülmüştür. Bulunan tüm çalışmalar karbopol jelden ilaç salımının daha yavaş ve daha asidik pH koşullarında yüksek salım gösterdiğini desteklemektedir (Gupta and Vyas, 2010). Rasoulzadeh ve arkadaşları doksorubisin içeren nanopartikül formülasyonu geliştirerek hidrojel içerisine eklemişlerdir. Elde ettikleri hidrojel formülasyonun ilaç salım sonuçlarında doksorubisinin 6 saatte %7 salım gösterirken, 25 saatte %10'a ulaştığı görülmektedir. Yapılan bu çalışmada doksorubisin nanopartikül içeren jel formülasyonun düşük miktarda salım gösterdiği görülmektedir (Rasoulzadeh and Namazi, 2017). Singh ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada karbopol jelden imidakloprid salım profilini incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlarda asidik pH'da ilk saatlerde %2 salım görülürken ilerleyen saatlerde sabit hale gelerek %5'e ulaştığı görülmektedir (Singh et al., 2022). Tez kapsamında hedeflenen nanopartiküle yüklü ilacın kontrollü ve

uzun süreli salım gerçekleştirmesidir. Karbopol 940 jel ile kaplanan nanopartiküllerin etrafında polimer ağının olmasının sonucu olarak etken maddelerin salımının daha yavaş olduğu tahmin edilmektedir. Bulunan ilaç salım sonuçları literatürdeki değerlere yakındır. Jel formülasyonun ilaç salımının yavaş gerçekleşmesinin uzun süreli etki imkanı sunan tedaviye olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

4.4. Biyouyumluluk Çalışmaları

4.4.1. Protein Bağlama

DTP-NLC, DSPE-PEG-Tirozin bağlı NLC (P-NLC) ve Dox ve Trb ikili ilacı ile DSPE-PEG-Tirozin konjugatını içermeyen boş nanoyapılı lipid taşıyıcı (NLC)'ya it protein bağlama sonuçları Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Farklı serum:nanotaşıyıcı oranlarında (v:v) protein bağlanma yüzdeleri (%).

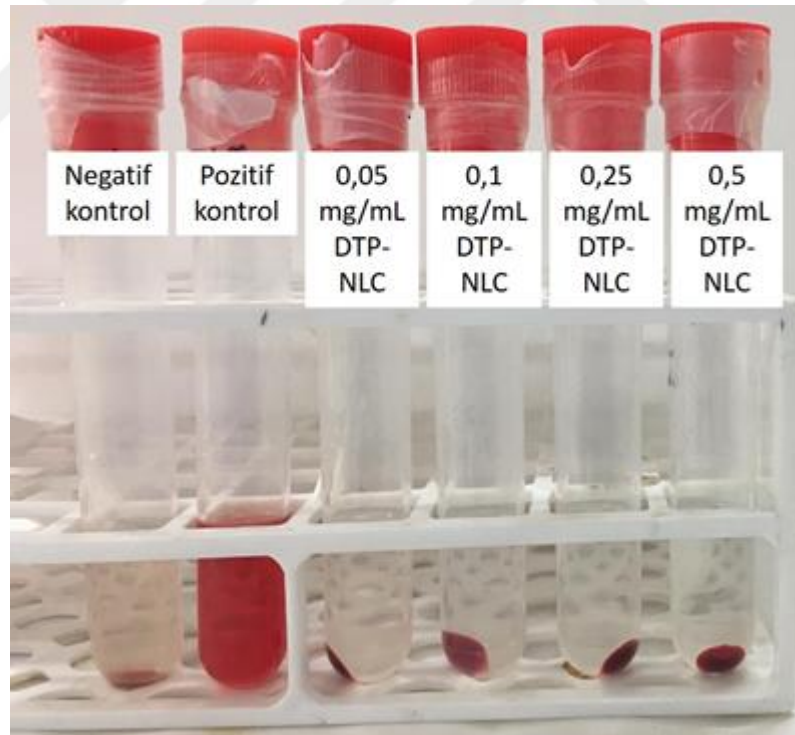
	Protein bağlanma (%)			
	10:90	20:80	40:60	60:40
NLC	12,24±1,54	20,83±5,35	20,43±2,73	13,74±0,72
P-NLC	1,56±0,65	8,23±3,47	9,15±1,54	9,72±0,11
DTP-NLC	5,51±2,08	12,93±2,65	11,77±4,21	13,19±0,94

Genel olarak bakıldığında NLC yapısına DSPE-PEG-Tirozin bağlandığında boş NLC yapısına göre bağlı protein yüzdesinin azaldığı görülürken, yapılara ilaçların katılmasıyla protein bağlanma yüzdesi bir miktar artış göstermiştir. Fakat yine de DSPE-PEG-Tirozin takılı olmayan NLC grubuna bağlanan protein miktarından yüksek yüzdelere ulaşılmamıştır. Konjugatın PEG kolu sayesinde protein bağlanmayı belli bir ölçüye kadar engellediği düşünülebilir. İlaçların ise hidrofobikliği artırdığı için protein bağlanmasında artışa sebebiyet verdiği söylenebilir. Çalışılan tüm oranlar ve nanotaşıyıcı gruplarının protein bağlanma yüzdeleri en fazla ~21 civarlarındadır. Semete ve arkadaşları yaptığı çalışmada PEG

veya Pluronic F127 kaplı poli(laktik-ko-glikolik asit) nanopartiküllerin belirtilen serum: nanopartikül oranlarında protein bağlanma yüzdeleri tez çalışmamda elde edilen değerlere oldukça yakın olarak bulunmuş ve bu değerlerin nanopartiküllerin sistemik sirkülasyon süresini uzatacağını ifade etmişlerdir (Semete et al., 2012b). 2015 yılındaki bir çalışmada ise bicalutamide yüklü NLC örneğinin serum proteinleri ile düşük oranda etkileştiği rapor edilmiş, bu durumun nedenlerinden biri olarak da serum proteinleri ve nanopartiküllerin negatif yükünden dolayı birbirlerini itebileceği ihtimali belirtilmiştir. Ayrıca bir diğer mekanizma olarak serum proteinlerinin hidrofobik yüzeylere bağlanarak fagositik hücrelerce alıma sebep olabileceğinden de bahsedilmiştir (Kudarha et al., 2015). Protein bağlanma deney sonucuna göre DTP-NLC yapısının biyoyumlu olduğu, sirkülasyonda kalabileceği düşünülmektedir.

4.4.2. Hemoliz Testi

DTP-NLC, P-NLC ve NLC'ye ait hemoliz sonuçları Şekil 4.7'de verilmiştir.

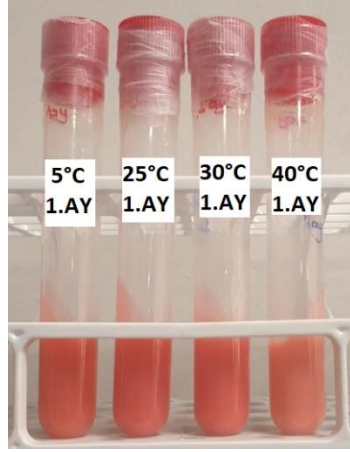


Şekil 4.7. Hemoliz deneyi sonu tüplerdeki görüntü. Soldan sağa sırasıyla negatif kontrol (PBS), pozitif kontrol (Triton X-100), 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 mg/mL DTP-NLC tüpleri.

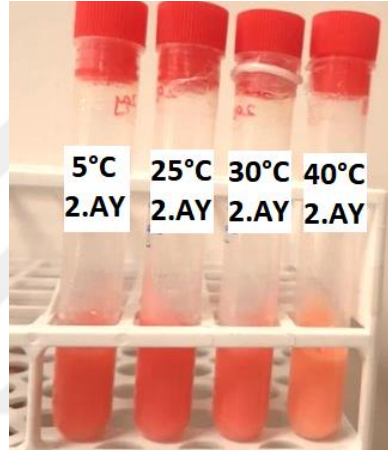
Zhao ve arkadaşları 2018 yılında yaptıkları çalışmada paklitaksel yüklü ultra-small NLC sistemleri hazırlayarak 1-0,1 mg/mL konsantrasyon aralığında çalıştıkları hemoliz deneyinde en yüksek konsantrasyonda dahi %2 'den az hemoliz belirlemiştir. Çalışmalarında ayrıca hemolizin biyoyumluluk deneylerinde önemli bir parametre olduğundan da bahsedilmiştir (Zhao et al., 2018). 2015 yılında Kudarha ve arkadaşları Precirol ATO5, oleik asit, Tween 80 ve soya lesitini kullanarak hazırladıkları NLC yapılarının eritrositlerde herhangi bir deformasyona ve hemolize neden olmadığını göstererek bu durumun temel sebebinin NLC örneklerinin negatif yükü olduğunu ileri sürmüştür. Nanotaşıyıcı sistemin parenteral kullanım için güvenli olduğunu da bildirmiştir (Kudarha et al., 2015). Kanwar ve arkadaşları Sophorolipid, oleik asit ve Tween 80 kullanarak sentezledikleri NLC'leri 0,93-18,70 mg/mL aralığında hazırlayarak hemoliz testini çalışmış ve kabul edilebilen sınır limit olarak gösterilen %5 hemolizin en yüksek konsantrasyon olan 18,70 mg/mL kullanıldığında bile aşılmadığını çalışmalarında ifade etmişlerdir. Bu sebeple NLC sisteminin yüksek oranda biyoyumlu olduğundan ve ilaç taşıma sistemi için uygun olabileceğinden de ayrıca bahsedilmiştir (Kanwar et al., 2019). Literatür değerlendirmeleri göz önüne alındığında protein bağlanma verileri de düşünüldüğünde hazırlanan nanotaşıyıcı sistemin biyoyumlu olduğu sonucuna ulaşılabilmektedir.

4.5. Stabilité Çalışmaları

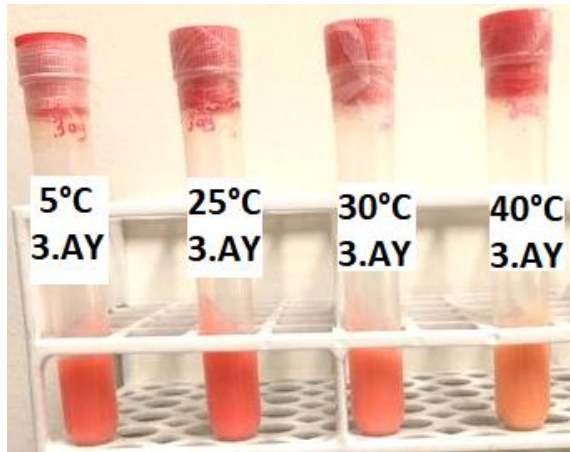
Şekil 4.8'de 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki 1 ay bekletilen jel örnekleri, Şekil 4.9'da 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki 2 ay bekletilen jel örnekleri, Şekil 4.10'da 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki 3 ay bekletilen, Şekil 4.11'de 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki 6 ay bekletilen ve Şekil 4.12'de 5°C, 25°C ve 30°C bekletilen jel örneklerine ait fotoğraflar verilmektedir. Şekil 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11 görüldüğü üzere özellikle 40°C'de bekletilen jel örneklerinde doksorubisinin renginden kaynaklı baskın turuncu-kırmızı rengin sıcaklığa bağlı değiştiği net bir şekilde görülmektedir.



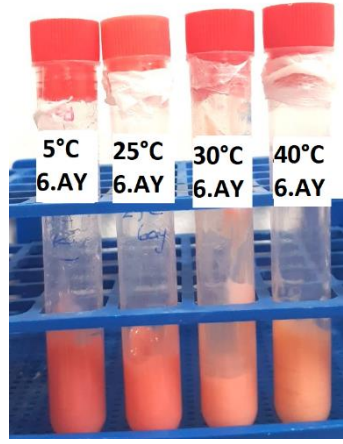
Şekil 4.8. 1.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C’deki stabilite örnekleri.



Şekil 4.9. 2.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C’deki stabilite örnekleri.



Şekil 4.10. 3.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C’deki stabilite örnekleri.



Şekil 4.11. 6.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki stabilite örnekleri.



Şekil 4.12. 12.ay 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'deki stabilite örnekleri.

pH Testi

DTP-NLC jelin stabilite sonuçlarına ait pH değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Jelin stabilitesine ait pH değerleri

		pH
0.an		6,01± 0,05
1.ay	5°C	5,99 ± 0,03
	25°C	5,91 ± 0,04
	30°C	5,79± 0,04
	40°C	5,52 ± 0,02
2.ay	5°C	5,98± 0,01
	25°C	5,86 ± 0,01
	30°C	5,72± 0,01
	40°C	5,37 ± 0,02
3.ay	5°C	5,96 ± 0,01
	25°C	5,85 ± 0,01
	30°C	5,65 ± 0,02
	40°C	5,34 ± 0,01
6.ay	5°C	6,12 ± 0,03
	25°C	5,84 ± 0,01
	30°C	5,61 ± 0,03
	40°C	5,33 ± 0,02
12.ay	5 °C	5,98 ± 0,02
	25 °C	5,26 ± 0,01
	30 °C	5,05 ± 0,02

DTP-NLC jel örneğine ait 0. an olan başlangıç anı pH değeri 6,01'dir. 1.ay, 2.ay ve 3.ay sonunda 5°C ve 25°C'de belirli bir değişme olmazken 1.ay, 2.ay ve 3.ay sonununda 30°C ve 40°C pH değerlerinde çok az da olsa bir düşme olduğu belirlenmiştir. Süre ilerledikçe 0.an değerine göre düşüş daha fazla yaşanmıştır. 12. ay sonuçlarına bakıldığında ise 5°C'de 0.an'a göre az miktarda düşüş yaşanmıştır. Ancak diğer stabilite ay verilerine paralellik gösterecek şekilde sıcaklık artışıyla birlikte pH değerinde düşüşler meydana gelmiştir. 12.ay sonunda değerlerde düşmeler meydana gelse bile pH hala 5'in üzerindedir ve bu da cilt ile uyumlu olan bir değer aralığıdır.

Dantas ve arkadaşlarının karbopol jel ile yaptıkları çalışmada, stabilite deneyi kapsamında hazırladıkları jeli 12 gün boyunca 4°C'de bekletmişlerdir (Dantas et al., 2016). Bu süre sonunda pH değerinde çok az da olsa bir düşüş meydana gelmiştir. Ancak bu düşüşe rağmen jelin %97 civarında stabil kaldığı belirlenmiştir. Pavelic ve arkadaşlarının lipozom yüklü karbopol jel ile yaptıkları stabilite çalışmasında, jeli 20°C'de ve 40°C'de 4 hafta boyunca bekletmişlerdir. 4.hafta sonunda pH değerinin değişmeden stabil kaldığı belirlenmiştir (Pavelić et al., 2005). Elde edilen değerler literatürle uyumlu olup uzun sürelerde yüksek ısılarda bekletilmesine rağmen 12. ay sonunda cilt ile uyumlu bir pH sonucu ölçülmüştür.

Viskozite Testi

DTP-NLC jelin stabilite sonuçlarına ait viskozite değerleri Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5. Jelin stabilitesine ait viskozite sonuçları

		Viskozite (cp)
0.an		13689 ± 101,9
1.ay	5°C	16114,33 ± 12,5
	25°C	15529,67 ± 11,9
	30°C	14605,67 ± 5,1
	40°C	10024,67 ± 6,8
2.ay	5°C	16002 ± 60,8
	25°C	15451,7 ± 89,5
	30°C	14433,3 ± 57,7
	40°C	9790 ± 85,4
3.ay	5°C	16400 ± 100
	25°C	15433,3 ± 57,7
	30°C	12400 ± 100
	40°C	6566,7 ± 208,2
6.ay	5°C	15633 ± 57,74
	25°C	11833 ± 57,74
	30°C	9666 ± 57,74
	40°C	4900 ± 100

12.ay	5 °C	12266,7 ± 251,7
	25 °C	8800 ± 264,6
	30 °C	6666,7 ± 251,7

1, 2 ve 3. aylarda viskozite değerleri 5°C’de yaklaşık 16000 cp değerlerinde, 25°C’de 15000 cp değerlerinde iken örneğin viskozitesi 30°C’de 2.ay sonunda yaklaşık 14000 cp değerlerine, 3. ay sonunda ise 12400 cp değerine düştüğü görülmektedir. 40°C’de bekletilen jel formülasyonun 1. ayda 10000 cp, 2. ayda 9700 cp ve 3. ayda 6500 cp değerlerine düştüğü görülmektedir. Net bir şekilde 40°C’de jelin bozulduğu viskozite değerlerinden görülmektedir. 0.an örneğinin ölçümleri Haziran ayında alınmış ve dolayısıyla laboratuvar koşullarının yaklaşık 30°C’de olduğu düşünüldüğü için 0. an jel viskozite değeri 30°C’de görülen viskozite değerleri ile benzer çıkmaktadır. Bu sebeple 5°C ve 25°C’de 1. ve diğer aylarda ölçülen viskozite değerindeki artışın laboratuvar sıcaklığın düşmesi kaynaklı olduğu düşünülmektedir. 12. ay viskozite sonuçlarına bakıldığında ise diğer aylarla paralellik gösterecek şekilde düştüğü gözlemlenmiştir. 5°C’de bekletilen örnek 0. an ile kıyaslandığında küçük bir düşüş olsa bile 25 ve 30°C’de ciddi bir viskozite düşüşü olmuştur ve bu da bu sıcaklık değerlerinde jelin stabilitesinin bozulduğunu net bir şekilde göstermektedir.

Bonesi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 45°C’de bekletilen karbopol 940 jelin viskozite değerinin 8°C’de bekletilen karbopol jele göre yaklaşık olarak %30 düştüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada soğuk koşullarda (8°C) bulunan karbopol jelin viskozite değerinin oda sıcaklığında bulunan karbopol jele göre %1,5 daha yüksek bir değere sahip olduğu görülmüştür (Bonesi et al., 2011). Chawla ve Saraf tarafından 2011 yılında yapılan çalışmada katı lipid nanopartikül içeren karbopol jel hazırlanmıştır. Jeli farklı sıcaklık koşullarında hazırlamaları durumunda viskozite değerindeki değişimleri incelemiş ve sıcak koşullarda hazırlanan jelin daha düşük viskozite değerine sahip olduğu sonucuna varmışlardır (Chawla and Saraf, 2012). Tanna ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ise karbopol jeli 20°C ve 37°C’de bekletmiştir. Bunun sonucunda 37°C’de daha düşük bir viskozite değeri elde

etmişlerdir (Tanna et al., 2010). Bu çalışmalar sıcaklık yükseldiğinde karbopol jelin viskozite değerinin düştüğünü doğrulamakta ve çalışma sonucumuzu desteklemektedir. Bu çalışmalar gözününde bulundurulduğunda DTP-NLC yüklü jelin viskozite değerinin 1. ve 2. ayda her sıcaklıkta bozulmadan kalabildiği 3. ayda 40 °C’de bozulmalar başladığı görülmektedir. 12 ay boyunca 5 °C’de viskozite değerinde ciddi bir değişme olmadığı ve viskozite açısından stabil kaldığı söylenebilmektedir.

Hidrodinamik Boyut ve PDI

DTP-NLC jelin stabilite sonuçlarına ait hidrodinamik boyut ve Polidispersite indeksi değerleri Tablo 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.6. Jelin stabilitesine ait hidrodinamik boyut ve PDI değerleri

		Hidrodinamik Boyut (nm)	PDI
0. an		149,83 ± 20,58	0,474 ± 0,02
1.ay	5°C	167 ± 25,16	0,677 ± 0,08
	25°C	160,3 ± 3,30	0,9 ± 0,03
	30°C	190,7 ± 0,75	0,92 ± 0,22
	40°C	213,1 ± 79,45	0,88 ± 0,30
2.ay	5°C	160,5 ± 65,68	0,689 ± 0,01
	25°C	159,1 ± 37,49	0,856 ± 0,20
	30°C	225,3 ± 45,99	0,986 ± 0,09
	40°C	238,0 ± 3,04	0,818 ± 0,14

3.ay	5°C	148,7 ± 20,40	0,638 ± 0,64
	25°C	164,6 ± 47,80	0,97 ± 0,08
	30°C	210,2 ± 0,10	0,97 ± 0,18
	40°C	257,9 ± 0,62	0,822 ± 0,52
6.ay	5°C	170,03 ± 57,40	0,77 ± 0,47
	25°C	173,27 ± 7,29	0,96 ± 0,31
	30°C	240,97 ± 23,80	0,85 ± 0,01
	40°C	302,43 ± 11,13	1,61 ± 0,07
12.ay	5 °C	147,3 ± 12,35	1,06 ± 0,05
	25 °C	200,5 ± 62,15	0,99 ± 0,31
	30 °C	389,2 ± 199,24	0,91 ± 0,01

DTP-NLC jelin başlangıç değeri olan 0.an değerinde hidrodinamik boyut 149,83 nm'dir. 1. ayın sonunda 5°C, 25°C, 30°C ve 40°C'de bekletilen örneklerde sıcaklık arttıkça hidrodinamik boyutun arttığı görülmüştür. Bununla birlikte 2., 3. ve 6. ay sonuçlarına bakıldığında yine sıcaklık arttıkça boyutta artış olmuş ve 1. ay sonuçları ile benzer değerler elde edilmiştir. PDI değerlerinin de benzer olarak sıcaklık ve süre artışı ile arttığı belirlenmiştir, bir başka deyişle yapıda heterojenitenin mevcut olabildiği düşünülmüştür. 12. ay sonuçlarına bakıldığında ise yine sıcaklık arttıkça boyutta artışlar meydana gelmiştir. PDI değerleri ise her sıcaklıkta birbirine yakınlık göstermektedir ve diğer ay sonuçlarıyla kıyaslandığında ciddi bir artış vardır. Buradan 12.aya yaklaştıkça jelin yapısında agregatlaşmalar olduğu ve homojen yapısının bozulduğu sonucu çıkmaktadır.

Pavelic ve arkadaşlarının lipozom yüklü karbopol jel ile yaptıkları stabilite çalışmasında, jeli 20°C ve 40°C’de 4 hafta boyunca bekletmişlerdir. 4.hafta sonunda 20°C’de bekletilen jelin hidrodinamik boyutları 0.an ile kıyaslandığında %20 civarında bir artış olduğu belirlenmiştir. Yine 4. hafta sonunda 40°C’de bekletilen jelin hidrodinamik boyutları 0.an ile kıyaslandığında %33 civarında bir artış olduğu görülmüştür. Bu boyut artışına rağmen jelin stabil kaldığı sonucuna varılmıştır (Pavelić et al., 2005). Peng ve arkadaşlarının 2014 yılında nanopartikül yüklü hidrojel ile yaptıkları stabilite çalışması sonucunda 4°C’de 4 hafta boyunca hidrodinamik boyut ve polidispersite indeksinde değişme olmadan stabil kaldığı belirlenmiştir (Peng et al., 2014). Khurana ve arkadaşları yaptıkları çalışmada karbopol NLC jelin 0.anda 210 nm olan boyutu 25°C’de 3.ayın sonunda 414 nm, 40°C’de 3.ayın sonunda 762 nm olarak görülmektedir. Sıcaklığın artışı ile kinetik enerjinin artması sonucunda nanopartiküller bir araya gelerek agregatlaşma eğilimi gösterdiği ve bu da boyutta artışa neden olduğu açıklanmaktadır (Khurana et al., 2015). Ayrıca yüksek sıcaklıklarda zaman içinde NLC yapısında kullanılan katı lipidin lipid dönüşümü ile yapıdaki ilaçların atılmasına da sebep olabileceği ve bu nedenle yüksek düzeyde düzenli bir lipid yapısının oluşumuna yol açarak boyutta artışın gerçekleşeceği düşünülmektedir. Bu agregatlaşmanın sonucunda PDI değerinde ise artış yaşandığı da görülmektedir. Literatür bilgilerine uygun olarak çalışmamızda 12.aya kadar 5°C bekletilen formülasyonun hidrodinamik boyutları hemen hemen değişmezken sıcaklık artışı ile (30°C ve 40 °C’de) boyut artışı görülmüştür. Bunun yanısıra 12.ayda PDI değerinde ciddi bir artış olmuştur ve formülasyon heterojen özellik göstermeye başlamıştır. Bu sebeple jel formülasyonunun boyut ve PDI açısından ilk 6 ay stabil kaldığı düşünülmektedir.

Zeta Potansiyel

DTP-NLC jelin stabilite sonuçlarına ait zeta potansiyel değerleri Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7. Jelin stabilitesine ait zeta potansiyel değerleri

		Zeta Potansiyel (mV)
0. an		-34,52±13,16
1.ay	5°C	-30,37 ± 1,64
	25°C	-26,76 ± 1,43
	30°C	-21,75 ± 1,06
	40°C	-18,96 ± 0,88
2.ay	5°C	-29,03 ± 0,97
	25°C	-23,34 ± 2,50
	30°C	-19,85 ± 2,00
	40°C	-15,19 ± 2,05
3.ay	5°C	-28,60 ± 3,46
	25°C	-22,72 ± 1,23
	30°C	-19,27 ± 1,08
	40°C	-14,25 ± 2,19
6.ay	5°C	-23,80 ± 0,81
	25°C	-21,51 ± 2,17
	30°C	-15,33 ± 3,33
	40°C	-11,01 ± 1,49
12.ay	5 °C	-24,37 ± 4,57
	25 °C	-22,15 ± 3,46
	30 °C	-14,97 ± 4,55

DTP-NLC jelin başlangıç değeri olan 0.an değerinde zeta potansiyel değeri - 34,52 mV’tur. 1, 2, 3 ve 6. ay sonucunda 5°C, 25°C, 30°C ve 40 °C’de bekletilen jel örneklerinin sıcaklık arttıkça zeta potansiyel değerinin mutlak değerinin azaldığı, bir

başka deyişle pozitif değere yaklaştığı görülmüştür. 5°C’de bekletilen jel formülasyonun 1., 2., 3. ve 6. ay sonuçları 0. an ile kıyaslandığında önemsenmeyecek değişimler olduğu sonucuna varılmıştır. 3. ve 6. ay sonunda zeta potansiyel değerleri sırasıyla -28,60 ve -23,80 mV olarak oldukça yüksek bir değerde kaldığı tespit edilmiştir. Buna karşılık 40°C’de ise 1. ay sonunda bile zeta potansiyel değeri -18,96 mV değerine düşmüştür. 12. Ay sonuçlarına bakıldığında ise diğer aylarla benzer şekilde hem sıcaklık artışıyla hem de zaman geçmesiyle birlikte potansiyel değerinin pozitif değere yaklaştığı görülmektedir Zeta potansiyel değerlerinin pH sonuçları ile de uyumlu olduğu görülmektedir. Zeta potansiyel değerinin mutlak değer olarak azalması, yani pozitif değere yaklaşması pH değerlerinin biraz daha asidik verilere ulaşması ile paralellik göstermektedir. Ayrıca PDI değer artışı ve boyut artışı ile de birbirini doğrulamaktadır. Zeta potansiyelin mutlak değerinin azalmasıyla nanopartiküllerin birbirini itme kuvvetleri azalarak biraraya gelme eğilimi gösterdiği bilinmektedir.

Literatür bulgularında da zeta potansiyel değerlerindeki değişim çalışma sonuçlarıyla benzerlik taşımaktadır. Nagaich ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada NLC karbopol jeli 20°C’de 6 ay bekletmişlerdir. 0.anda -32 mV olan zeta potansiyel değeri 6.ayın sonunda -19,5 mV olarak pozitif değere yaklaştığı görülmüştür. Zamanla NLC jelin ilaç içeriğinin bozulması ile potansiyel değerindeki mutlak değer azalışının bizim çalışmamızda da olduğu tahmin edilmektedir (Nagaich and Gulati, 2016). Khurana ve arkadaşları yaptıkları çalışmada karbopol NLC jelin 0.anda -27 mV olan zeta potansiyel değerinin 25°C’de 3.ayda -19 mV, 40°C’de 3.ayda -14 mV değerine gelerek pozitif değere yaklaştığı gözlenmiştir (Khurana et al., 2015). Çalışmada yüksek sıcaklıklarda zaman içinde NLC’de kullanılan katı lipidin lipid dönüşümü ile yapıdaki ilaçların atılmasına sebep olabileceği ve ilaçların bu sıcaklıklarda bozunduğu düşünülmektedir ve bunun sonucunda zeta potansiyel değerinin pozitif değere yaklaştığı ifade edilmektedir.

Etkin Madde

DTP-NLC jelin stabilitesine ait doksorubisin ve trabektedin etken maddelerinin % kayıpları Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. Jelin stabilitesine ait etken madde miktarı

		Etken madde kaybı (%)	
		DOX	TRB
1.ay	5°C	1,32 ± 1,43	0,81 ± 0,03
	25°C	2,92 ± 0,81	18,48 ± 0,14
	30°C	12,17 ± 1,09	23,99 ± 0,09
	40°C	44,8 ± 0,06	32,49 ± 0,24
2.ay	5°C	2,01 ± 1,12	1,81 ± 0,12
	25°C	7,38 ± 0,55	28,84 ± 0,20
	30°C	15,07 ± 0,95	33,73 ± 0,10
	40°C	39,18 ± 31	55,55 ± 0,01
3.ay	5°C	6,77 ± 0,20	3,48 ± 0,13
	25°C	21,09 ± 0,11	33,61 ± 0,01
	30°C	29,21 ± 0,24	35,01 ± 0,25
	40°C	59,16 ± 0,36	63,33 ± 0,01
6.ay	5°C	7,68 ± 2,85	5,02 ± 0,26
	25°C	33,28 ± 5,00	27,75 ± 0,87
	30°C	44,82 ± 6,23	45,08 ± 0,76
	40°C	58,36 ± 0,60	68,65 ± 0,48
12.ay	5 °C	8,35 ± 0,10	45,96 ± 0,35
	25 °C	50,68 ± 0,04	64,58 ± 0,03
	30 °C	46,48 ± 0,02	60,44 ± 0,06

Jel formülasyonunun 0.an etken madde içeriği %100 kabul edilerek kayıp değerleri hesaplanmış ve değerler yukarıdaki tabloda sunulmuştur. 1.ay sonunda 5°C’de DOX kaybı %1,32 iken 40°C’de %44,8’dir. 2. ve 3.ay sonunda 5°C’de önemsiz miktarda artarken 6.ay sonunda da %7,68 oranıyla düşük düzeyde bir kayıp gerçekleşmiştir. 40°C’de ise 2, 3 ve 6. ay sonunda kayıp miktarı giderek artmış ve %60’a yakın değerinde kayıp meydana gelmiştir. 1.ay sonunda 5°C’de Trb kaybı %0,81 iken 40°C’de %32,49’dur. 2. ve 3.ay sonunda çok az miktarda kayıp gözlenirken 6.ay sonunda %5,02 değeriyle önemsiz bir kayıp gerçeklemiştir. 40 °C ise giderek artış göstermiş ve 6.ay sonunda ise %70’e yakın değerinde kayıp

yaşanmıştır. 12. ay sonuçlarına bakıldığında ise Dox'ta 5°C'de %8,35 kayıp olurken 30°C'de %46,48 kayıp meydana gelmiştir. Trb açısından baktığımızda ise 5°C'de %45,96 değerinde kayıp olurken 30°C'de %60,44'tür.

Cutts ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları çalışmada doksorubisinin 37°C'de 40 saat stabil kaldığı daha sonra yapıda bozulmalar meydana geldiği sonucuna varılmıştır (Cutts et al., 2005). Gupta ve arkadaşlarının 1988 yılında doksorubisinin stabilitesi üzerine yaptıkları çalışmada ilacın oda sıcaklığında 24 saate kadar stabil kaldığı belirlenmiştir (Gupta and Vyas, 2010). 20°C-70°C arasında bekletilen ilacın stabilitesinin kısa süreli olduğu ve bozulmaya uğradığı sonucuna varılmıştır. İlacın en uygun saklama koşulunun 4°C ve daha düşük sıcaklıklar olduğu belirtilmiştir. Trabektedinin nanotaşıyıcı formuna dair literatür bilgileri çok kısıtlı olmakla birlikte serbest formunun oldukça non-stabil olduğu ifade edilmektedir. Gregorio ve arkadaşlarının 2020 yılında trabektedin üzerinde yaptıkları çalışmada trabektedinin serbest formunun -30°C'de 3 ay boyunca %15'lik bir kayıp olmakla birlikte stabil kaldığı, 4°C ve 25 °C'de ise çok daha kısa sürede bozulmalar meydana geldiği sonucuna varılmıştır (Di Gregorio et al., 2020). Aynı şekilde Ceriani ve arkadaşlarının elde ettikleri sonuca göre trabektedinin -20°C'de %15'lik bir kayıpla 1 ay boyunca stabil kaldığı 4°C ve 25 °C'de ise daha kısa süre stabil kaldığı belirtilmiştir (Ceriani et al., 2015).

Tüm stabilite çalışmaları sonucunda jelin 6 ay boyunca 5 °C'de stabil kaldığı, hem yapısını hem de ilaç içeriğini koruduğu belirlenmiştir. Ancak 12. ay sonuçlarına bakıldığında boyut, PDI, zeta potansiyel değerlerinden yapının bozulduğu net bir şekilde anlaşılmaktadır. Etken madde tayini sonucunda ise Dox'un yaklaşık %9'nun ancak Trb'nin yarısına yakın değerinin bozulduğu belirlenmiştir. Bu değerler göz önüne alındığında DTP-NLC jel için en iyi saklama koşulunun 5°C'de 6 ay olduğu düşünülmektedir.

5.SONUÇLAR

Melanoma kanser türleri arasında öldürücülüğü çok yüksek olan bir cilt kanseri türüdür. Öldürücülüğü günden güne artmakta ve varolan tedavilerde yetersizlikler bulunmaktadır (Domingues et al., 2018). İlaçların nanotaşıyıcılarla taşınması kanserli dokularda daha düşük dozla yüksek terapötik etki göstermesini sağlamaktadır. Böylece ilaçlar sağlıklı dokulara minimum düzeyde etki eder ve olası yan etkiler oldukça az görülür (Ding and Li, 2017). Nanoyapılı lipid taşıyıcılar son dönemlerde ön plana çıkan, yüksek ilaç kapsülleme özelliği olan ve oldukça biyouyumlu nanotaşıyıcılardır (Haider et al., 2020). Hidrofobik özelliğe sahip olan doksorubisin ve lipofilik özelliğe sahip olan trabektedin NLC'lerin yapısındaki lipid molekülleriyle kolaylıkla etkileşime girer ve böylece enkapsülasyon verimi artar. Melanoma tedavisinde transdermal uygulamalar, hedef bölgeye doğrudan uygulama avantajı sağladığı için ön plana çıkmaktadır. Cilt tabakalarından biri olan stratum corneum tabakası güçlü bir cilt bariyeridir. NLC'ler karbopol jellerle modifiye edildiği zaman cilt penetrasyonunu iyileştirmekte ve ilaçların SC tabakasından geçişini kolaylaştırmaktadır (Imran et al., 2020).

Tez kapsamında doksorubisin ve trabektedinin olası yan etkilerini en aza indirmek ve terapötik etkisini arttırmak için konjugat ile melanomaya hedefli hale getirilmiş NLC'lere yüklenmiş şekliyle kullanılmıştır (DTP-NLC). Melanoma tedavisinde kullanım kolaylığı sağlaması için DTP-NLC'ler karbopol 940 ile birlikte jel formülasyonuna dönüştürülmüştür. İlaç salım çalışmalarının sonuçlarına bakıldığında, kanser bölgesinin asidik pH'ına uygun olarak pH 5'te daha yüksek salım görülmüştür. Dox ve Trb'nin serbest ilaç çözeltisi yaklaşık 3 saatte ilaçların tamamına yakınının salımını gerçekleştirirken nanopartiküllere yüklü halinin 55.saatin sonunda bile az bir kısmı salınmış ve DTP-NLC'de yavaş, uzun ve kontrollü bir salım gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. Jele yüklü Dox ve Trb nanopartiküle yüklü haliyle kıyaslandığında ise jel formülasyonundan Dox ve Trb'nin 55.saatin sonunda bile her iki ilaç için her iki pH değerinde de %7'sinden daha az bir salım olmuştur. Böylece jelin, cilt tabakasına yapışarak uzun sürede ve kontrollü bir şekilde tedaviye olanak sağladığı sonucuna varılmıştır. Biyouyumluluk

alışmaları kapsamında protein bağlama ve hemoliz deneyleri yapılmış ve her iki çalışma sonucunda da DTP-NLC'nin biyouyumlu olduğu belirlenmiştir. Formüle edilen jele yapılan karakterizasyon sonucunda pH $6,01 \pm 0,05$, viskozite $13689 \pm 101,89$ cp, hidrodinamik boyut $149,60 \pm 20,93$ nm, PDI $0,474 \pm 0,02$ ve zeta potansiyel değeri $-34,52 \pm 13,16$ mV olarak bulunmuştur. Bu değerkler cilt ile uyumlu, ilaçların cilt bariyerlerinden geçişini kolaylaştıran ve ciltte uzun süre tedaviye olarak sağlayan değerkler olduğu sonucuna varılmıştır. Jelin saklama ömrünün belirlenmesi için, jel 5, 25, 30 ve 40 °C'de 6 ay 5, 25 ve 30 °C'de 12 ay bekletilmiştir. En iyi saklama koşulunun 5 °C olduğuna ve 6 ay stabil kaldığına karar verilmiştir.



6.ÖNERİLER

Melanoma gün geçtikçe artış göstermeye devam eden malign bir tümördür ve öldürücülüğü çok yüksektir. Mevcut yöntemlerle 5 yıllık bir sağkalım profili çizmekle birlikte uzak metastaz ile birlikte bu sayı oldukça düşmektedir (Johansen et al., 2020). Doksorubisin ve Trabektedin farklı kanserlerin tedavisinde kullanılan anti kanser ilaçlardır. İki ilacın kombine halde kullanımıyla birlikte terapötik etkilerinin oldukça arttığı bilinmektedir (Incalci and Galmarini, 2010). Hedefe yönelik tedavi ile ilaçların etkisinin artması ve olası yan etkilerinin en aza inmesi hedeflenmiştir. Bu amaç doğrultusunda, hedef bölgeye direkt uygulanan transdermal tedaviler ön plana çıkarılmış ve topikal kullanım için jel formülasyonu geliştirilmiştir. Geliştirilen jele çok çeşitli karakterizasyon çalışmaları yapılmış ve optimum koşullar belirlenmiştir. Sonuçlar literatür ile kıyaslanmış ve jelin cilt ile uyumlu, tedavi ediciliği yüksek olduğuna karar verilmiştir. Sistemin salım profili incelendiğinde, kontrollü salım yaptığı ve asidik pH'da fizyolojik pH'a göre daha hızlı salım gerçekleştirdiği görülmüştür. Biyouyumlu olduğuna ve 6 ay 5 °C'de stabil kaldığı belirlenmiştir.

Tez kapsamında sadece bu sonuçlar verilmiş olsa da 219S788 numaralı TÜBİTAK 1001 projesi kapsamında in vitro ve in vivo çalışmaları yapılmıştır. Tüm çalışmalar sonucunda hazırlanan jelin melanoma tedavisine hedefli, metastazı önleme ve tedavi etmede çok iyi performans gösterdiği belirlenmiştir. Bir sonraki adım olarak faz çalışmalarının tamamlanıp yüksek ölçekli üretime geçilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- A-sasutjarit, R., Sirivat, A., & Vayumhasuwan, P.,** 2005, Viscoelastic Properties of Carbopol 940 Gels and Their Relationships to Piroxicam Diffusion Coefficients in Gel Bases. 22(12), 2134–2140 pp
- Abdolahpour, S., Mahdieh, N., Jamali, Z., Akbarzadeh, A., Toliyat, T., & Paknejad, M.,** 2017, Development of Doxorubicin-Loaded Nanostructured Lipid Carriers: Preparation, Characterization, and In Vitro Evaluation on MCF-7 Cell Line. *BioNanoScience*, 7(1), 32–39pp.
- Ahmed, K. S., Hussein, S. A., Ali, A. H., Korma, S. A., Lipeng, Q., Jinghua, C., Ahmed, K. S., Hussein, S. A., Ali, A. H., & Korma, S. A.,** 2019, Liposome : composition , characterisation , preparation , and recent innovation in clinical applications. *Journal of Drug Targeting*, 27(7), 742–761pp.
- Ahmed, K. S., Shan, X., Mao, J., Qiu, L., & Chen, J.,** 2019, Derma roller® microneedles-mediated transdermal delivery of doxorubicin and celecoxib co-loaded liposomes for enhancing the anticancer effect. *Materials Science and Engineering C*, 99(11), 1448–1458pp.
- Ankita, K., Asha, D., & Baquee, A. A.,** 2020, Formulation and Evaluation of Transdermal Topical Gel of Ibuprofen. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(2), 20–25pp.
- Ataide, A., Silveira, E., Tambourgi, E. B., Jozala, A. F., Maria, E., & Souto, B.,** 2019, Modified-release topical hydrogels : a ten-year review. 10963–10983pp.
- Bay, L., Alkorta, I., & Arana, L.,** 2019, Application of Solid Lipid Nanoparticles to Improve the Efficiency of Anticancer Drugs.
- Beloqui, A., Solinís, M. Á., Rodríguez-gascón, A., Almeida, A. J., & Prést, V.** (2016). Nanostructured lipid carriers : Promising drug delivery systems for future clinics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 12(1), 143–161pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Bernabeu, E., Moretton, M. A., & Chiappetta, D. A.,** 2016, Doxorubicin : nanotechnological overviews from bench to bedside
- Betti, R., Agape, E., Vergani, R., Moneghini, L., & Cerri, A.** (2016). An observational study regarding the rate of growth in vertical and radial growth phase superficial spreading melanomas. *Oncology Letters*, 12(3), 2099–2102 pp.
- Bonesi, C. de M., Ulian, L. S., Balem, P., & Angeli, V. W.,** 2011, Carbamide peroxide gel stability under different temperature conditions: Is manipulated formulation an option? *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47(4), 719–724pp.
- Bradford, M. M.,** 1976, A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. 254, 248–254pp.
- Cacicedo, M. L., Islan, G. A., León, I. E., Álvarez, V. A., Chourpa, I., Allard-Vannier, E., García-Aranda, N., Díaz-Riascos, Z. V., Fernández, Y., Schwartz, S., Abasolo, I., & Castro, G. R.,** 2018, Bacterial cellulose hydrogel loaded with lipid nanoparticles for localized cancer treatment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 170(3), 596–608pp.
- Cagel, M., Bernabeu, E., Moretton, M. A., & Chiappetta, D. A.,** 2017, Doxorubicin : nanotechnological overviews from bench to bedside. 22(2)pp.
- Cao, W., Chen, H. Da, Yu, Y. W., Li, N., & Chen, W. Q.,** 2021, Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020. *Chinese Medical Journal*, 134(7), 783–791pp.
- Ceriani, L., Ferrari, M., Zangarini, M., Licandro, S. A., Bello, E., Frapolli, R., Falcetta, F., D’Incalci, M., Libener, R., Grosso, F., Aviles, P., & Zucchetti, M.,** 2015, HPLC-MS/MS method to measure trabectedin in tumors: Preliminary PK study in a mesothelioma xenograft model. *Bioanalysis*, 7(15), 1831–1842pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Chamundeeswari, M., Jeslin, J., & Verma, M. L.,** 2019, Nanocarriers for drug delivery applications. *Environmental Chemistry Letters*, 17(2), 849–865pp.
- Chawla, V., & Saraf, S. A.,** 2012, Rheological studies on solid lipid nanoparticle based carbopol gels of aceclofenac. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 92, 293–298pp.
- Chuk, M. K., Balis, F. M., & Fox, E.,** 2009, Trabectedin. *The Oncologist*, 14(8), 794–799pp.
- Clapp, R., E, G. H., & S., M. J.,** 2006, Environmental and Occupational Causes of Cancer Re-visited. *Journal of Public Health Policy* 61–76pp.
- Cole, A. J., David, A. E., Wang, J., Galbán, C. J., Hill, H. L., & Yang, V. C.,** 2011, Biomaterials Polyethylene glycol modified , cross-linked starch-coated iron oxide nanoparticles for enhanced magnetic tumor targeting. *Biomaterials*, 32(8), 2183–2193pp.
- Craythorne, E., & Al-Niami, F.,** 2017, Skin cancer. *Medicine (United Kingdom)*, 45(7), 431–434pp.
- Cullen, J. K., Simmons, J. L., Parsons, P. G., & Boyle, G. M.,** 2020, Topical treatments for skin cancer. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 153, 54–64pp.
- Cutts, S. M., Nudelman, A., Rephaeli, A., & Phillips, D. R. (2005).** The power and potential of doxorubicin-DNA adducts. *IUBMB Life*, 57(2), 73–81pp.
- Dantas, M. G. B., Reis, S. A. G. B., Damasceno, C. M. D., Rolim, L. A., Rolim-Neto, P. J., Carvalho, F. O., Quintans-Junior, L. J., & Da Silva Almeida, J. R. G.,** 2016, Development and Evaluation of Stability of a Gel Formulation Containing the Monoterpene Borneol. *Scientific World Journal*, 2016pp.
- Das, B., Nayak, A. K., & Nanda, U. (2013).** International Journal of Biological Macromolecules Topical gels of lidocaine HCl using cashew gum and Carbopol 940: Preparation and in vitro skin permeation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 514–517pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Davies, E. J.**, 2021, Melanoma. 46–52pp.
- Davis, L. E., Shalin, S. C., & Tackett, A. J.**, 2019, Current state of melanoma diagnosis and treatment. *Cancer Biology and Therapy*, 20(11), 1366–1379pp.
- Dessinioti, C., Geller, A. C., Stergiopoulou, A., Swetter, S. M., Baltas, E., Mayer, J. E., Johnson, T. M., Talaganis, J., Trakatelli, M., Tsoutsos, D., Tsourouflis, G., & Stratigos, A. J.** (2018). Association of skin examination behaviors and thinner nodular vs superficial spreading melanoma at diagnosis. *JAMA Dermatology*, 154(5), 544–553pp.
- DeWane, M. E., Kelsey, A., Oliviero, M., Rabinovitz, H., & Grant-Kels, J. M.**, 2019, Melanoma on chronically sun-damaged skin: Lentigo maligna and desmoplastic melanoma. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 81(3), 823–833pp.
- Di Gregorio, E., Miolo, G., Steffan, A., & Corona, G.** (2020). Novel method for fast trabectedin quantification using hydrophilic interaction liquid chromatography and tandem mass spectrometry for human pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 185, 113261pp.
- Ding, C., & Li, Z.** (2017). A review of drug release mechanisms from nanocarrier systems. *Materials Science and Engineering C*, 76, 1440–1453pp.
- Domingues, B., Lopes, J., Soares, P., & Populo, H.**, 2018, Melanoma treatment in review. *ImmunoTargets and Therapy*, Volume 7, 35–49pp.
- Duan, Y., Dhar, A., Patel, C., Khimani, M., & Neogi, S.**, 2020, A brief review on solid lipid nanoparticles : part and. 26777–26791pp.
- Dubois, E. A., & Cohen, A. F.**, 2009, *New Drug Mechanisms*. 320–321pp.
- Eid, A. M., Elmarzugi, N. A., & El-enshasy, H. A.** (2013). Development of Avocado oil Nanoemulsion Hydrogel using Sucrose Ester Stearate. 3(12), 145–147pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Elder, D. E., Bastian, B. C., Cree, I. A., Massi, D., & Scolyer, R. A.,** 2020, The 2018 World Health Organization classification of cutaneous, mucosal, and uveal melanoma detailed analysis of 9 distinct subtypes defined by their evolutionary pathway. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 144(4), 500–522pp.
- Fatima, N., Rehman, S., Nabi, B., Baboota, S., & Ali, J.,** 2019, Harnessing nanotechnology for enhanced topical delivery of clindamycin phosphate. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 54(5), 101253pp.
- Fernandes, R. S., Silva, J. O., Mussi, S. V., Lopes, S. C. A., Leite, E. A., Cassali, G. D., Cardoso, V. N., Townsend, D. M., Colletti, P. M., Ferreira, L. A. M., Rubello, D., & de Barros, A. L. B.,** 2018, Nanostructured Lipid Carrier Co-loaded with Doxorubicin and Docosahexaenoic Acid as a Theranostic Agent: Evaluation of Biodistribution and Antitumor Activity in Experimental Model. *Molecular Imaging and Biology*, 20(3), 437–447pp.
- Fetih, G. N.** (2010). Formulation And Characterization Of Gelucire. 33(12), 217–224pp.
- Green, A. C., Viros, A., Hughes, M. C. B., Gaudy-Marqueste, C., Akhras, V., Cook, M. G., & Marais, R.** (2018). Nodular melanoma: A histopathologic entity? *Acta Dermato-Venereologica*, 98(4), 460–462pp.
- Griffin, All Bafra & C, Jtl** (2016). Non-melanoma skin cancer. 16(1), 62–65pp.
- Guleri, K. T., & Preet, K. L.** (2013). Research Article. 3(6), 51–53pp.
- Gupta, S., & Vyas, S. P.** (2010). Carbopol/chitosan based pH triggered in situ gelling system for ocular delivery of timolol maleate. *Scientia Pharmaceutica*, 78(4), 959–976pp.
- Haider, M., Abdin, S. M., Kamal, L., & Orive, G.,** 2020, Nanostructured Lipid Carriers for Delivery of Chemotherapeutics : A Review.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Han, F., Yin, R., Che, X., Yuan, J., Cui, Y., Yin, H., & Li, S.** (2012). Nanostructured lipid carriers (NLC) based topical gel of flurbiprofen : Design , characterization and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 439(1–2), 349–357pp.
- Heenatigala Palliyage, G., Singh, S., Ashby, C. R., Tiwari, A. K., & Chauhan, H.,** 2019, Pharmaceutical Topical Delivery of Poorly Soluble Polyphenols: Potential Role in Prevention and Treatment of Melanoma. *AAPS PharmSciTech*, 20(6).
- Imran, M., Iqbal, M. K., Imtiyaz, K., Saleem, S., Mittal, S., Rizvi, M. M. A., Ali, J., & Baboota, S.,** 2020, Topical nanostructured lipid carrier gel of quercetin and resveratrol: Formulation, optimization, in vitro and ex vivo study for the treatment of skin cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, 587(3), 119705pp.
- Imran, M., Kashif, M., Imtiyaz, K., & Saleem, S.,** 2020, Topical nanostructured lipid carrier gel of quercetin and resveratrol : Formulation , optimization , in vitro and ex vivo study for the treatment of skin cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, 587(3), 119705pp.
- Incalci, M. D., & Galmarini, C. M.,** 2010, A Review of Trabectedin (ET-743): A Unique Mechanism of Action. 2157–2163pp.
- Jager, M. J., Shields, C. L., Cebulla, C. M., Abdel-Rahman, M. H., Grossniklaus, H. E., Stern, M. H., Carvajal, R. D., Belfort, R. N., Jia, R., Shields, J. A., & Damato, B. E.** (2020). Uveal melanoma. *Nature Reviews Disease Primers*, 6(1), 18–20pp.
- Johansen, T. H., Fabelo, H., & Godtliebsen, F.** (2020). Recent advances in hyperspectral imaging for melanoma detection. *March 2019*, 1–17pp.
- Journal, A. I., Zhang, H., Wang, Q., Liu, T., Zhang, Y., Qian, A., & Xia, Q.** (2017). Development and characterization of alpha-lipoic acid-loaded nanostructured lipid carrier hydrogel. 4587pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Kanwar, R., Gradzielski, M., Prevost, S., Appavou, M. S., & Mehta, S. K.,** 2019, Experimental validation of biocompatible nanostructured lipid carriers of sophorolipid: Optimization, characterization and in-vitro evaluation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 181(6), 845–855pp.
- Kawakami, A., & Fisher, D. E.,** 2017, The master role of microphthalmia-associated transcription factor in melanocyte and melanoma biology. *Laboratory Investigation*, 97(6), 649–656pp.
- Khan, M. A., Pandit, J., Sultana, Y., Sultana, S., Ali, A., Aqil, M., Chauhan, M., Khan, M. A., Pandit, J., Sultana, Y., Sultana, S., Ali, A., & Aqil, M.,** 2015, Novel carbopol-based transfersomal gel of 5- fluorouracil for skin cancer treatment: in vitro characterization and in vivo study Novel carbopol-based transfersomal gel of 5-fluorouracil for skin cancer treatment: in vitro characterization and in vivo st. 7544pp.
- Khosa, A., Reddi, S., & Saha, R. N.,** 2018, Biomedicine & Pharmacotherapy Nanostructured lipid carriers for site-specific drug delivery. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103(February), 598–613pp.
- Khurana, S., Jain, N. K., & Bedi, P. M. S.** (2013). Development and characterization of a novel controlled release drug delivery system based on nanostructured lipid carriers gel for meloxicam. *Life Sciences*, 93(21), 763–772pp.
- Khurana, S., Jain, N. K., & Bedi, P. M. S.** (2015). Nanostructured lipid carriers based nanogel for meloxicam delivery: Mechanistic, in-vivo and stability evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 41(8), 1368–1375pp.
- Kudarha, R., Dhas, N. L., Pandey, A., Belgamwar, V. S., & Ige, P. P.,** 2015, Box-Behnken study design for optimization of bicalutamide-loaded nanostructured lipid carrier: Stability assessment. *Pharmaceutical Development and Technology*, 20(5), 608–618pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Larsen, A. K., Galmarini, C. M., & D’Incalci, M.** (2016). Unique features of trabectedin mechanism of action. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 77(4), 663–671pp.
- Laureate, S. E., Mohamed, M. S., Mustafa, A., & Eid, M.,** 2015, Formulation and Evaluation of Avocado Oil Nanoemulsion Hydrogels Using Formulation and Evaluation Of Avocado Oil Nanoemulsion Hydrogels Using Sucrose Ester Laureate. September 2013pp.
- Licata, G., Scharf, C., Ronchi, A., Pellerone, S., Argenziano, G., Verolino, P., & Moscarella, E.,** 2021, Diagnosis and management of melanoma of the scalp: A review of the literature. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 14, 1435–1447pp.
- Malik, D. S., & Kaur, G.,** 2018, Journal of Drug Delivery Science and Technology Nanostructured gel for topical delivery of azelaic acid: Designing , characterization , and in-vitro evaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 47(4), 123–136pp.
- Marta, A., Filipe, C., José, J., Sousa, S., Caria, A., Pais, C., Cristina, M., Simões, F., José, J., Sousa, S., António, A., & Canelas, C.** (2014). Skin cancer and new treatment perspectives : a review. *Cancer Letters*.
- Meredith, A., & Dass, C. R.** (2016). Increasing role of the cancer chemotherapeutic doxorubicin in cellular metabolism. 68, 729–741pp.
- Merkel, E. A., Mohan, L. S., Shi, K., Panah, E., Zhang, B., & Gerami, P.,** 2019, Paediatric melanoma: clinical update, genetic basis, and advances in diagnosis. *The Lancet Child and Adolescent Health*, 3(9), 646–654pp.
- Meyer, R. A., Sunshine, J. C., Green, J. J., & Tissue, T.,** 2016, Biomimetic Particles as Therapeutics. 33(9), 514–524pp.
- Miller, A. J., & Mihm, M. C.,** 2006, review article. 51–65pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Mills, A., & Gago, F.,** 2021, Insight into the sequence - specific elements leading to increased DNA bending and ligase - mediated circularization propensity by antitumor trabectedin. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 35(6), 707–719pp.
- Monk, B. J., Lorusso, D., Italiano, A., Kaye, S. B., Aracil, M., & Incalci, M. D.,** 2016, Trabectedin as a chemotherapy option for patients with BRCA deficiency. 50, 175–182pp.
- Nagaich, U., & Gulati, N.,** 2016, Nanostructured lipid carriers (NLC) based controlled release topical gel of clobetasol propionate: design and in vivo characterization. *Drug Delivery and Translational Research*, 6(3), 289–298pp.
- Naves, L. B., Dhand, C., Venugopal, J. R., Rajamani, L., Ramakrishna, S., & Almeida, L.,** 2017, Nanotechnology for the treatment of melanoma skin cancer. *Progress in Biomaterials*, 6(1–2), 13–26pp.
- Nenclares, P., Ap Dafydd, D., Bagwan, I., Begg, D., Kerawala, C., King, E., Lingley, K., Paleri, V., Paterson, G., Payne, M., Silva, P., Steven, N., Turnbull, N., Yip, K., & Harrington, K. J.,** 2020, Head and neck mucosal melanoma: The United Kingdom national guidelines. *European Journal of Cancer*, 138, 11–18pp.
- Nesakumar, T., Immanuel, J., Kumar, B., Antony, J., & Karuppusamy, I.,** 2018, Toxicity of Doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems. *Life Sciences*, 200(3), 26–30pp.
- Nicolson, N. G., & Han, D.** (2019). Desmoplastic melanoma. *Journal of Surgical Oncology*, 119(2), 208–215pp.
- Pandey, S. S., Patel, M. A., Desai, D. T., Patel, H. P., Gupta, A. R., Joshi, S. V., Shah, D. O., & Maulvi, F. A.** (2020). Bioavailability enhancement of repaglinide from transdermally applied nanostructured lipid carrier gel: Optimization, in vitro and in vivo studies. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 57(April), 101731pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Patil, S. C., Gadade, D. D., & Rathi, P. B.,** 2015, Design , Development and Evaluation of Herbal Gel for Treatment of Psoriasis.
- Pavelić, Ž., Škalko-Basnet, N., & Jalšenjak, I.,** 2005, Characterisation and in vitro evaluation of bioadhesive liposome gels for local therapy of vaginitis. International Journal of Pharmaceutics, 301(1–2), 140–148pp.
- Pavlova, N. N., & Thompson, C. B.,** 2016, The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. Cell Metabolism, 23(1), 27–47pp.
- Peng, L. H., Xu, S. Y., Shan, Y. H., Wei, W., Liu, S., Zhang, C. Z., Wu, J. H., Liang, W. Q., & Gao, J. Q.** (2014). Sequential release of salidroside and paeonol from a nanosphere-hydrogel system inhibits ultraviolet B-induced melanogenesis in guinea pig skin. International Journal of Nanomedicine, 9(1), 1897–1908pp.
- Ravasco, P.** (2019). Nutrition in cancer patients. Journal of Clinical Medicine, 8(8), 1–13pp.
- Ren, K., Abilash, V. G., B, T. P. P., & Arunachalam, S.,** 2018, Molecular mechanism of doxorubicin-induced cardiomyopathy – An update. European Journal of Pharmacology, 818(July 2017), 241–253pp.
- Rezk, A. I., Obiweleozor, F. O., Choukrani, G., Park, C. H., & Kim, C. S.** (2019). Drug release and kinetic models of anticancer drug (BTZ) from a pH-responsive alginate polydopamine hydrogel: Towards cancer chemotherapy. International Journal of Biological Macromolecules, 141, 388–40pp.
- Sadighian, S., & Rostamizadeh, K.** (2014). Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Doxorubicin-conjugated core – shell magnetite nanoparticles as dual-targeting carriers for anticancer drug delivery. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 117, 406–413pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Salvi, V. R., & Pawar, P.,** 2019, Journal of Drug Delivery Science and Technology Nanostructured lipid carriers (NLC) system : A novel drug targeting carrier. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 51(990), 255–267pp.
- Semete, B., Booysen, L., Kalombo, L., Ramalapa, B., Hayeshi, R., & Swai, H. S,** 2012, Effects of protein binding on the biodistribution of PEGylated PLGA nanoparticles post oral administration. International Journal of Pharmaceutics, 424(1–2), 115–120pp.
- Sercombe, L., Veerati, T., Moheimani, F., Wu, S. Y., & Hua, S.** (2015). Advances and Challenges of Liposome Assisted Drug Delivery. 6(December), 1–13pp.
- Shafei, A., El-bakly, W., Sobhy, A., Wagdy, O., Reda, A., Aboelenin, O., Marzouk, A., El, K., Mostafa, R., Ali, M. A., & Ellithy, M.,** 2017, Biomedicine & Pharmacotherapy A review on the efficiency and toxicity of different doxorubicin nanoparticles for targeted therapy in metastatic breast cancer. Biomedicine & Pharmacotherapy, 95(June), 1209–1218pp.
- Shafiei, M., Balhoff, M., & Hayman, N. W.,** 2018, Chemical and microstructural controls on viscoplasticity in Carbopol hydrogel. Polymer, 139, 44–51pp.
- Sharma, A., Upadhyay, D. K., Sarma, G. S., Kaur, N., Gupta, G. Das, Narang, R. K., & Rai, V. K.,** 2020, Journal of Drug Delivery Science and Technology Squalene integrated NLC based gel of tamoxifen citrate for efficient treatment of psoriasis : A preclinical investigation. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 56(November 2019), 101568pp.
- Sharma, G., Thakur, K., Raza, K., Singh, B., & Katare, O. P.** (2017). Nanostructured lipid carriers: A new paradigm in topical delivery for dermal and transdermal applications. Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 34(4), 355–386pp.
- Shukr, M. H.** (2013). Evaluation of Topical Gel Bases Formulated with Various Essential Oils for Antibacterial Activity against Methicillin- Resistant Staphylococcus Aureus. 12(12), 877–884pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Singh, A., Kar, A. K., Singh, D., Verma, R., Shraogi, N., Zehra, A., Gautam, K., Anbumani, S., Ghosh, D., & Patnaik, S.,** 2022, pH-responsive eco-friendly chitosan modified cenosphere/alginate composite hydrogel beads as carrier for controlled release of Imidacloprid towards sustainable pest control. *Chemical Engineering Journal*, 427(6), 131215pp.
- Song, S. H., Lee, K. M., Kang, J. B., Lee, G., Kang, J., & Choi, Y. W.** (2014). Improved Skin Delivery of Voriconazole with a Nanostructured Lipid Carrier-Based Hydrogel Formulation. 62(August), 793–798pp.
- Sritharan, S., & Sivalingam, N.** (2021). Review article A comprehensive review on time-tested anticancer drug doxorubicin. *Life Sciences*, 278(September 2020), 119527pp.
- Subramaniam, B., Siddik, Z. H., & Nagoor, N. H.,** 2020, Optimization of nanostructured lipid carriers: understanding the types, designs, and parameters in the process of formulations. *Journal of Nanoparticle Research*, 22(6).
- Susok, L., & Gambichler, T.,** 2022, Caucasians with acral lentiginous melanoma have the same outcome as patients with stage- and limb-matched superficial spreading melanoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 148(2), 497–502pp.
- Tanna, S., Sahota, T., Clark, J., & Taylor, M. J.** (2010). Covalent coupling of concanavalin A to a Carbopol 934P and 941P carrier in glucose-sensitive gels for delivery of insulin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 54(11), 1461–1469pp.
- Waheed, Z.,** 2017, An Efficient Machine Learning Approach for the Detection of Melanoma using Dermoscopic Images. 316–319pp.
- Wang, Y., Zhang, H., Hao, J., Li, B., Li, M., & Xiuwen, W.** (2015). Lung cancer combination therapy: co-delivery of paclitaxel and doxorubicin by nanostructured lipid carriers for synergistic effect. *Drug Delivery*, 00(00), 1–6pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Wen, M. M., El-kamel, A. H., Khalil, S. A., Wen, M. M., El-kamel, A. H., & Khalil, S. A.,** 2012, Systemic enhancement of papaverine transdermal gel for erectile dysfunction Systemic enhancement of papaverine transdermal gel for erectile dysfunction. 9045pp.
- Wong, H. L., Bendayan, R., Rauth, A. M., Li, Y., & Wu, X. Y.** (2007). Chemotherapy with anticancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 491–504pp.
- Xu, H., Wen, Y., Chen, S., Zhu, L., Feng, R., & Song, Z.,** 2020, Paclitaxel skin delivery by micelles-embedded Carbopol 940 hydrogel for local therapy of melanoma. *International Journal of Pharmaceutics*, 587(6), 1196–1206pp.
- Yallapu, M. M., Chauhan, N., Othman, S. F., Khalilzad-sharghi, V., Ebeling, M. C., Khan, S., Jaggi, M., & Chauhan, S. C.,** 2015, Biomaterials Implications of protein corona on physico-chemical and biological properties of magnetic nanoparticles. *Biomaterials*, 46, 1–12pp.
- Yde, S. S., Sjoegren, P., Heje, M., & Stolle, L. B.,** 2018, Mucosal Melanoma: a Literature Review. *Current Oncology Reports*, 20(3).
- You, J. S., & Jones, P. A.,** 2012, Review Cancer Genetics and Epigenetics : Two Sides of the Same Coin ? 9–20pp.
- Yuan, W., Kuai, R., Dai, Z., Yuan, Y., Zheng, N., Jiang, W., Noble, C., Hayes, M., Szoka, F. C., & Schwendeman, A.,** 2016, Development of a Flow-Through USP-4 Apparatus Drug Release Assay to Evaluate Doxorubicin Liposomes. *The AAPS Journal*, 4 pp.
- Zhao, X., Tang, D., Yang, T., & Wang, C.,** 2018, Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Facile preparation of biocompatible nanostructured lipid carrier with ultra- small size as a tumor-penetration delivery system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 170(3), 355–363pp.

TEŞEKKÜR

Öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, bilgi birikimi ve tecrübeleriyle yoluma ışık tutan Prof.Dr.Şenay HAMARAT ŞANLIER’e, tez çalışmam boyunca bilgisini ve tecrübesini sabırla benimle paylaşan, yönlendirmesi ve yol göstericiliğiyle bu yolda ilerlememi sağlayan, her konuda beni destekleyen ve yüreklendiren Arş.Gör.Dr.Güliz AK DEMİROZ’a, çalışmalarımındaki yardımları ve destekleri için başta çalışma arkadaşım Arş.Gör.Gizem TUTAR olmak üzere Tuğba KARAKAYALI KAVRUK, Ayça EREK ve Kübra AKTAŞ’a, hem maddi hem manevi olarak beni destekledikleri ve sonsuz sabırları ile hep arkamda olduklarını bildiğim ablam Halenur BALYAPAN, annem Sibel BALYAPAN, babam Nazım BALYAPAN ve erkek arkadaşım Tolunay TİRELİ’ye çok teşekkür ederim.

Bu çalışma 219S788 numaralı, “Melanoma Tedavisinde İkili İlaç İçeren Hedefli Nanopartikül Sisteminin Topikal Kemoterapiye Yönelik Etkinliğinin Araştırılması” adlı proje olarak Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir. Destekleri için TÜBİTAK’a teşekkürler.

22/07/2022

Hande BALYAPAN

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Aldığı Sertifikalar:

8th International Conferance on Engineering and Natural Science (ICENS) with an Oral Presentation, 2022

3rd Eurosia Biochemical Approaches & Technologies (EBAT) Congress with an Oral Presentation, 2021

Laboratuvar Güvenliği, Tehlikeli Atık ve Sıfır Atık Uygulamaları Eğitimi, 2021

AROM ARAŞTIRMACI ÖĞRENCİ ORYANTASYON EĞİTİMİ, 2021

Web of Science Group, 2020

7.Ulusal Biyomühendislik Kongresi, 2019

Uzmanlık Alanı:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyokimya	Ege Üniversitesi	2015-2020
Y. Lisans	Biyokimya	Ege Üniversitesi	2020-devam ediyor

Yüksek Lisans Tez Başlığı (özetinde) ve Tez Danışman(lar)ı:

Melanoma Tedavisinde İkili İlaç İçeren Nanoyapılı Lipid Taşıyıcıların Biyoyoumluluğunun İncelenmesi ve Nanoyapılı Lipid Taşıyıcı İçeren Jelin Formülasyonu ve Karakterizasyonu

Prof.Dr.Şenay HAMARAT ŞANLIER

Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Stajyer	Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma - Uygulama Merkezi	2019-2019

Projelerde Yaptığı Görevler:

“Melanoma Tedavisinde İkili İlaç İçeren Hedefli Nanopartikül Sisteminin Topikal Kemoterapiye Yönelik Etkinliğinin Araştırılması”, TÜBİTAK 1001, 219S788 nolu proje, Bursiyer, 01.07.2020- devam ediyor.

ESERLER

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:

B1. Ak Demiroz G., Balyapan H., Tutar G., Yıldız Türkyılmaz G., “Gel Formulation of Nanostructured Lipid Carriers Developed for Topical Treatment of Melanoma” Kısa sözel ve poster bildiri, 3 rd Eurasia Biochemical Approaches & Technologies (3.Ebat) Congress, Antalya, 04-07 Kasım 2021.

B2. Ak Demiroz G., Tutar G., Balyapan H., “Development of Nanostructured Lipid Carriers for Melanoma Treatment”, Sözel bildiri, 3 rd Eurasia Biochemical Approaches & Technologies (3.Ebat) Congress, Antalya, 04-07 Kasım 2021.

B3. Ak Demiroz G., Güler G., Tutar G., Balyapan H., “Synthesis of an LAT 1 Targeting-Conjugate for Carrier-Mediated Melanoma Treatment Strategy”, Poster bildiri, 3 rd Eurasia Biochemical Approaches & Technologies (3.Ebat) Congress, Antalya, 04-07 Kasım 2021.

B4. Balyapan H., Tutar G., Ak Demiroz G., “Biocompatibility and in vitro drug release tests of dual drug loaded nanostructured lipid carriers”, Sözel bildiri, 3 rd International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (EurasianSciEnTech 2021), Çevrimiçi kongre, Ankara, 15-17 Aralık 2021.

B5. Ak Demiroz G., Balyapan H., Tutar G., Arslan Y. E., Derkuş B., “Evaluation of the Cytotoxic and Anti-inflammatory Effects of Melanoma-Targeted Nanostructured Lipid Carriers on Melanocytes, Macrophages, and 3D-Cancer Cell Spheroids” Sözel bildiri, 8 th International Conferance on Engineering and Natural Science (ICENS), Çevrimiçi Kongre, İstanbul, 18-22 Mayıs 2022.

